

CONSIGLIO NAZIONALE DELLE RICERCHE

Istituto per l'Ambiente Marino Costiero

Laboratorio di Ecologia Marina di Castellammare del Golfo

SPERIMENTAZIONE DI METODOLOGIE DI FACILITAZIONE DEL RECLUTAMENTO DI GERMOGLI DI

***POSIDONIA OCEANICA* FINALIZZATE AL RIPRISTINO DELLE PRATERIE**

RELAZIONE FINALE

Dicembre 2010

IAMC-CNR

Sede distaccata di Castellammare del Golfo – via G. Da Verrazzano, 17 – 91014 Castellammare del Golfo (TP), Sicilia

Sede principale U.O.S. di Mazara del Vallo - Via Vaccara, 61 - 91026 Mazara del Vallo (TP) Sicilia

Consulenza scientifica nel campo del ripristino delle praterie di *Posidonia oceanica* per SAIPEM S.p.A.

CONTRATTO NUMERO 524645 del 26/07/2010

CONSIGLIO NAZIONALE DELLE RICERCHE

Istituto per l'Ambiente Marino Costiero

Laboratorio di Ecologia Marina di Castellammare del Golfo

SPERIMENTAZIONE DI METODOLOGIE DI FACILITAZIONE DEL RECLUTAMENTO DI GERMOGLI DI

***POSIDONIA OCEANICA* FINALIZZATE AL RIPRISTINO DELLE PRATERIE**

RELAZIONE FINALE

Autori:

Responsabile scientifico: Dott. Fabio Badalamenti

Hanno collaborato alla ricerca: Dott.ssa Adriana Alagna, Assegnista di Ricerca

Dott. Giovanni D'Anna, ricercatore

Sig. Giuseppe Di Stefano, CTER

Dott. Tomás Vega Fernández, ricercatore

Dicembre 2010

IAMC-CNR

Sede distaccata di Castellammare del Golfo – via G. Da Verrazzano, 17 – 91014 Castellammare del Golfo (TP), Sicilia

Sede principale U.O.S. di Mazara del Vallo - Via Vaccara, 61 - 91026 Mazara del Vallo (TP) Sicilia

Consulenza scientifica nel campo del ripristino delle praterie di *Posidonia oceanica* per SAIPEM S.p.A.

CONTRATTO NUMERO 524645 del 26/07/2010

INDICE DEI CONTENUTI

Lista delle figure	3
Lista delle tabelle.....	6
Parte I: Sperimentazione di metodologie di facilitazione del reclutamento di germogli di <i>Posidonia oceanica</i> finalizzate al ripristino delle praterie.....	7
1.1 Introduzione ed obiettivi generali.....	8
1.2 Elenco delle sperimentazioni	11
1.3 Preparazione delle sperimentazioni.....	12
1.4 Primo esperimento: insediamento ed accrescimento di germogli di <i>Posidonia oceanica</i> su diverse tipologie di substrato.....	16
1.4.1 Obiettivi specifici	16
1.4.2 Progettazione e realizzazione dell'esperimento	16
1.4.3 Risultati.....	28
1.5 Secondo Esperimento: effetto dell'altezza della massicciata sulla sopravvivenza e sull'accrescimento dei germogli.....	39
1.5.1 Obiettivi specifici	39
1.5.2 Progettazione e realizzazione dell'esperimento	39
1.5.3 Risultati.....	43
1.6 Quarto esperimento: accrescimento dei germogli su supporti costituiti da ciottoli	47
1.6.1 Obiettivi specifici	47
1.6.2 Progettazione e realizzazione dell'esperimento	47
1.6.3 Risultati.....	51

1.7 Discussione generale	56
Parte Seconda: ricognizione della prateria di Capo Feto	60
2.1 Ispezioni all’approdo costiero di Capo Feto	61
2.2 Transetti paralleli alla costa.....	61
2.2.1 Prateria a <i>Posidonia oceanica</i> integra	62
2.2.2 Matte morta di <i>Posidonia oceanica</i>	63
2.2.3 <i>P. oceanica</i> su “rubble mound”	65
2.2.4 Ciottoli	69
2.2.5 Sabbia e ghiaia.....	70
2.2.6 Grandi massi isolati	73
2.3 Conclusioni	74
Parte terza: Conclusioni e indicazioni.....	75
Bibliografia.....	80

Lista delle figure

Parte Prima

Fig. 1.1: Semi di *P. oceanica* posti in vasca: la germinazione avviene immediatamente dopo il rilascio

Fig. 1.2: Andamento della temperatura all'interno delle vasche nel periodo di sperimentazione

Fig. 1.3: Andamento della salinità all'interno delle vasche nel periodo della sperimentazione

Fig. 1.4: Confronto tra un germoglio sano, sulla destra ed un germoglio attaccato da funghi, sulla sinistra.

Fig. 1.5: volume medio \pm Errore Standard (SE) delle quattro differenti pezzature di rocce utilizzate.

Fig. 1.6: Cassetta riempita con sabbia

Fig. 1.7: Trattamento Big

Fig.1.8: Trattamento Big and Small

Fig. 1.9: Trattamento All size

Fig. 1.10: Dimensioni del germoglio al momento al momento della semina

Fig. 1.11: Germogli appena seminati su sabbia, a sinistra, e su un trattamento composto da sole rocce "Big".

Fig. 1.12: Le unità sperimentali al termine dell'esperimento

Fig. 1.13: Disassemblaggio delle cassette.

Fig.1.14: Misura della forza di ancoraggio del germoglio al substrato. La foto in alto a sinistra ha funzione esplicativa e mostra come veniva posizionato il cappio intorno al germoglio prima di tirarlo via dal substrato. Ovviamente questa operazione veniva fatta sotto la superficie dell'acqua, su germogli ancora ancorati sulle rocce.

Fig.1.15: Misura complessiva dei germogli e conservazione in ghiaccio per le successive analisi morfologiche e chimiche.

Fig. 1.16: Numero medio di germogli sopravvissuti per vasca \pm Errore Standard (ES) riportate per ciascun livello di complessità.

Fig. 1.17: Tasso medio dei germogli colpiti da infezione micotica per vasca \pm ES riportati per ciascun livello di complessità.

Fig.1.18: Tasso medio di germogli ancorati per vasca \pm Errore Standard (ES) per trattamento.

Fig. 1.19: Valori medi della forza di ancoraggio dei germogli al substrato + 1 Errore Standard (ES) per trattamento.

Fig. 1.20: documentazione fotografica dell'ancoraggio su roccia, esempi di come l'apparato radicale può accrescersi seguendo la morfologia del substrato

Fig. 1.21: documentazione fotografica dell'ancoraggio su roccia, nelle prime quattro foto viene mostrato lo stesso germoglio le cui radici sono penetrate all'interno de fessure e fori presenti sul ciottolo

Fig. 1.22: Tasso medio dei germogli trattenuti dal substrato \pm Errore Standard (ES) riportato per trattamento.

Fig. 1.23: Lunghezza media dei germogli al termine dell'esperimento \pm Errore Standard (ES) riportata per trattamento.

Fig. 1.25: Accrescimento dei germogli su roccia.

Fig. 1.26: Una delle tre vasche predisposta per il secondo esperimento, all'interno sono presenti una replica di altezza 30 cm, una di altezza 50 cm e una di altezza 70 cm.

Fig. 1.27: Fusti di altezza crescente riempiti di rocce "Big" per la realizzazione dei tre diversi livelli di altezza della massicciata: da sinistra verso destra: trattamento 30 cm, 50 cm, 70 cm.

Fig. 1.28: Valore medio del tasso di mortalità dei germogli \pm 1 Errore Standard per i tre livelli di altezza della massicciata.

Fig. 1.29: Valore medio della lunghezza complessiva del germoglio \pm 1 Errore Standard in funzione dei tre livelli di altezza della massicciata.

Fig. 1.30: Confronto tra germogli allevati in assenza in superficie e al di sotto di una massicciata di rocce di altezza 30 cm, 50 cm, 70 cm.

Fig. 1.31: Germoglio assicurato al ciottolo mediante rete elastica

Fig. 1.32: Germoglio assicurato al ciottolo mediante filo di nylon cucito sul seme

Fig. 1.33: Interspersione dei trattamenti rete elastica e filo di nylon nelle vasche

Fig. 1.31: Percentuale media per vasca di germogli sopravvissuti al termine dell'esperimento \pm Errore Standard (ES).

Fig. 1.32: Percentuale media per vasca di germogli che restano fissati al supporto al termine dell'esperimento \pm Errore Standard (ES).

Fig. 1.33: Percentuale media per vasca di germogli le cui radici seguono l'andamento del substrato \pm Errore Standard (ES).

Fig. 1.34: esempi di accrescimento delle radici sui ciottoli in funzione della morfologia del substrato.

Fig. 1.35: esempi di accrescimento delle radici attorno ai ciottoli in funzione della morfologia del substrato.

Parte Seconda

Fig. 2.1.: Limite orientale della trincea con scalino e *Posidonia oceanica* frammentata al di sopra dello scalino.

Fig. 2.2: Esempi di matite morte di *Posidonia oceanica* all'interno del trench.

Fig. 2.3: Dettagli di impianti nuovi e già consolidati su massi di calcare.

Fig. 2.4. Dettagli di impianti nuovi e già consolidati su massi di calcare.

Fig. 2.5: Formazione della matte ed investimento energetico in radici dei rizomi colonizzanti.

Fig. 2.6: Substrato caratterizzato da ciottoli formati a seguito dello sgretolamento dei massi di calcarenite.

I ciottoli offrono un attacco effimero a rizomi beanti all'interno della trincea.

Fig. 2.7: I substrati mobili minacciano l'integrità della prateria e sono in gran parte il risultato dell'erosione dei massi di calcarenite che ricoprivano la trincea dopo il primo scavo.

Fig. 2.8: I substrati mobili minacciano l'integrità della prateria e sono in gran parte il risultato dell'erosione dei massi di calcarenite che ricoprivano la trincea dopo il primo scavo.

Fig. 2.9: Dettaglio di grandi massi rocciosi al disopra dei quali cresce *Posidonia oceanica*.

Lista delle tabelle

Parte Prima

Tab.1.1: Sopravvivenza dei germogli espressi in valore assoluto e percentuale in totale, suddivisi in base alla tipologia di substrato e per singolo trattamento.

Tab.1.2: Risultati dell'ANOVA sul tasso medio di incidenza dell'infezione micotica. NS, non significativo, * significativo ($P < 0.05$).

Tab.1.3: Risultati dell'ANOVA condotta sul tasso medio di germogli ancorati per vasca e risultati dell'SNK test. NS, non significativo, * significativo ($P < 0.05$).

Tab.1.4: Risultati dell'ANOVA condotta sulla forza media di ancoraggio dei germogli al substrato e risultati dell'SNK test. NS, non significativo, * significativo ($P < 0.05$).

Tab.1.5: Risultati dell'ANOVA condotta sul tasso medio di germogli trattenuti dal substrato e risultati dell'SNK test. NS, non significativo, ** significativo ($P < 0.001$).

Tab.1.6: Risultati dell'ANOVA condotta sulla lunghezza media dei germogli e risultati dell'SNK test. NS, non significativo, ** significativo ($P < 0.001$).

Tab. 1.7: Dimensioni medie e Errore Standard (ES) delle rocce utilizzate nell'esperimento.

Tab. 1.8: Risultati dell'ANOVA sul il tasso di mortalità dei germogli tra diversi livelli dei trattamenti. NS, non significativo.

Tab. 1.9: Risultati dell'ANOVA sull'accrescimento dei germogli tra diversi livelli dei trattamenti. NS, non significativo, * significativo ($P < 0.05$).

Tab. 1.10: Dimensioni medie ed Errore Standard (ES) delle rocce utilizzate nell'esperimento.

Tab. 1.11: Risultati dell'ANOVA condotta sulla percentuale di sopravvivenza. NS, non significativo.

Tab. 1.12: Risultati dell'ANOVA condotta sulla tenuta nel tempo dell'unità ciottolo-germoglio. NS, non significativo.

Tab. 1.13: Risultati dell'ANOVA condotta sul pattern di accrescimento delle radici. NS, non significativo.

Parte I: Sperimentazione di metodologie di facilitazione del reclutamento di
germogli di *Posidonia oceanica* finalizzate al ripristino delle praterie

1.1 Introduzione ed obiettivi generali

Nel Mediterraneo le praterie di *Posidonia oceanica* rappresentano sistemi di elevata importanza all'interno dell'ambiente marino costiero in virtù dei servizi ecosistemici che esse sono in grado di svolgere quali l'elevata produzione di biomassa, la ciclizzazione dei nutrienti, la protezione delle coste dall'erosione, l'incremento della biodiversità locale. Tuttavia l'aumento esponenziale della popolazione umana che vive lungo le coste nonché l'incremento continuo delle attività antropiche che si concentrano sulla fascia costiera producono impatti crescenti sulle praterie e possono causarne la regressione.

Nelle ultime decadi numerosi sforzi sono stati fatti nell'implementare misure di gestione e protezione delle praterie nonché nell'attuazione di progetti di ripristino. Sebbene il reimpianto di *P. oceanica* sia stato prescritto in alcuni decreti di VIA come misura di mitigazione e/o compensazione, i trapianti di *P. oceanica* sono ancora in fase sperimentale. Gli esperimenti di trapianto di *P. oceanica* sono stati realizzati fin'ora su scala medio - piccola ed hanno fatto uso di supporti artificiali come reti e griglie fissati al substrato per assicurare i propaguli al fondo. A fronte delle grandi quantità di tempo e lavoro richiesti e degli alti costi che rendono queste metodologie non applicabili su scala medio - grande , il successo di questi interventi è altamente variabile quando non nettamente negativo. Negli ultimi anni la necessità di ripristinare praterie di fanerogame marine su grandi estensioni (decine, centinaia di ettari) è entrata in conflitto con gli alti costi degli interventi di ripristino e vi è una crescente preoccupazione nei confronti di quelle metodologie che implicano l'estrazione di rizomi o zolle da letti donatori, soprattutto per quelle specie di grossa taglia caratterizzate da crescita molto lenta come *Posidonia* e *Thalassia* spp. Queste problematiche hanno incoraggiato lo sviluppo di metodologie più efficaci e meno dispendiose dal punto di vista del tempo, del lavoro e del materiale biologico richiesto. Tra queste metodologie "alternative" vi sono i cosiddetti "metodi indipendenti dal letto donatore" ed i metodi di facilitazione del reclutamento naturale. I primi si basano sull'utilizzo di semi e germogli già rilasciati dalla pianta e non comportano appunto l'estrazione di materiale biologico da praterie (Orth *et al.*, 1994; 2006). I metodi di facilitazione del reclutamento naturale puntano ad incrementare la probabilità di intercettazione, sopravvivenza e reclutamento di propaguli nel sito prescelto per l'intervento di ripristino, sfruttando la capacità delle specie di recuperare naturalmente e la

presenza di popolazioni originarie nelle vicinanze del sito impattato che possono agire come fonte di propaguli (Wear *et al.*, 2010; Irving *et al.*, 2010). Tali metodologie si basano sulla conoscenza e l'osservazione dei processi naturali di insediamento e reclutamento dei propaguli e di come i fattori ambientali influiscano su questi processi, in relazione alle caratteristiche biologiche ed ecologiche delle singole specie.

Posidonia oceanica è caratterizzata da una crescita molto lenta (2-4 cm anno⁻¹ per il rizoma plagiotropo) ed i tempi di recupero delle praterie, in condizioni ottimali, sono stimati nell'ordine di centinaia di anni. Osservazioni e studi effettuati in precedenza su *Posidonia oceanica* (Di Carlo *et al.*, 2005; Badalamenti *et al.*, in press; Alagna 2010) indicano che, ove le altre condizioni ambientali siano idonee, la natura del substrato e la sua complessità rappresentano fattori di primaria importanza nell'influenzare i *pattern* di recupero e di colonizzazione della pianta. Il recupero naturale della prateria tramite propaguli vegetativi (rizomi) è stato infatti osservato solo su substrato consolidato caratterizzato da una complessità rilevante alla scala del propagulo (centimetri), al contrario non si osserva un recupero della prateria su altre tipologie di substrato su cui è stata condotta l'osservazione quali sabbia, matte morta, massi calcarenitici che mancano della necessaria stabilità e/o complessità.

Lo stesso andamento è stato osservato per quanto riguarda i processi di insediamento e reclutamento dei germogli su varie tipologie di substrato. Il periodo compreso tra germinazione e reclutamento del germoglio rappresenta una delle fasi maggiormente critiche nell'intero ciclo vitale per molte piante e la presenza di una bassa sopravvivenza entro il primo anno di vita si riconosce nel ciclo vitale di molte fanerogame marine tra cui *P. oceanica*. Durante le prime fasi del ciclo vitale infatti il germoglio manca di un apparato radicale ben sviluppato ed è quindi maggiormente esposto all'azione di moto ondoso e correnti che possono sradicarlo. Il processo di ancoraggio rappresenta quindi una delle fasi più critiche per la nuova plantula ed anche in questo caso osservazioni precedentemente effettuate (Alagna, 2010) indicano che la presenza di un substrato consolidato (roccioso) e caratterizzato da complessità topografica alla scala dei centimetri favorisce l'ancoraggio e la persistenza del germoglio nel tempo incrementando quindi la probabilità di reclutamento.

Sulla base di queste osservazioni e della necessità di sviluppare strategie di ripristino maggiormente rispondenti ai requisiti ecologici della specie sono state progettate e realizzate alcune sperimentazioni indirizzate a sviluppare metodologie di facilitazione del reclutamento naturale di germogli con fini di ripristino.

Le sperimentazioni di seguito elencate hanno come obiettivo quello di valutare la possibilità di utilizzare semi e germogli di *Posidonia oceanica* per realizzare iniziative di facilitazione del reclutamento naturale. In particolare le sperimentazioni sono finalizzate a:

(i) definire condizioni ottimali di raccolta, stoccaggio ed allevamento dei germogli in vasca.

(ii) delineare le caratteristiche ottimali di un ipotetico substrato artificiale su cui effettuare una iniziativa di ripristino tramite germogli, tali da massimizzare la probabilità di ancoraggio, persistenza e quindi reclutamento dei germogli. Verrà valutata l'influenza della natura, complessità del substrato ed altezza della massicciata costituita da tale substrato sulla sopravvivenza e sull'insediamento del germoglio.

(iii) valutare la possibilità di trasferire i germogli sulla massicciata utilizzando dei supporti a cui il germoglio si ancori spontaneamente o possa essere assicurato in modo tale da stabilizzarlo ed incrementare così la probabilità di persistenza in situ durante i primi mesi di vita.

I risultati di queste sperimentazioni daranno quindi prime indicazioni per la realizzazione di possibili interventi di facilitazione del reclutamento naturale mediante semi e germogli, circa la metodologia consigliabile da utilizzare e sulla composizione e struttura preferibile del substrato che dovrà costituire la base di questi interventi.

1.2 Elenco delle sperimentazioni

- 1. Primo esperimento: insediamento ed accrescimento di germogli di *Posidonia oceanica* su diverse tipologie di substrato**
- 2. Secondo esperimento: effetto dell'altezza della massicciata sulla sopravvivenza e sull'accrescimento dei germogli**
- 3. Terzo esperimento: forza di adesione del germoglio al substrato (sostituito con il primo esperimento)**
- 4. Quarto esperimento: accrescimento dei germogli su supporti costituiti da ciottoli**

Note: a causa di problemi tecnici nel disporre i germogli su substrati idonei nel terzo esperimento, la misura della forza di adesione del germoglio al substrato è stata realizzata durante il primo esperimento.

1.3 Preparazione delle sperimentazioni

Le sperimentazioni sono state realizzate all'interno di un impianto di acquacoltura sperimentale a circuito aperto che prelevava acqua direttamente dal mare. L'impianto era costituito da vasche indipendenti per cui l'acqua che transitava in una vasca non entrava in contatto con le altre, garantendo che possibili patogeni o agenti contaminanti non venissero dispersi tra le vasche.

I germogli utilizzati nell'esperimento provengono da materiale biologico raccolto lungo la costa nord occidentale della Sicilia. Nelle aree costiere antistanti praterie di grandi estensioni ed in buona salute vi sono, di norma, aree di accumulo di materiale biologico come foglie senescenti e rizomi sradicati dalle mareggiate e, nel periodo di rilascio dei frutti da parte della pianta, vi si possono trovare grandi accumuli di frutti deiscenti (cioè in fase di rilascio del seme) e semi. La raccolta di materiale spiaggiato è un metodo poco costoso e rapido per raccogliere grandi quantità di semi. Dal 20/05/2010 al 15/06/2010 sono stati raccolti 1270 semi circa, più che sufficienti per le sperimentazioni da avviare (Fig. 1.1).

Dopo la raccolta frutti e semi sono stati trasportati in vasca, dove hanno iniziato a germogliare.

Le sperimentazioni sono state avviate in giugno e sono terminate in ottobre.

Le condizioni di allevamento in vasca all'interno dell'impianto nel periodo delle sperimentazioni sono state le seguenti:

- Temperatura (C°): max 20.2; min: 18.3; media: 19.4 (Fig. 1.2)
- Salinità (*part per thousand*: ppt): max: 33.2; min: 30.6; media: 32.6 (Fig. 1.3)
- Radiazione luminosa: 2 lampade fluorescenti da 18 Watt, temperatura 6500 Kelvin per vasca, fotoperiodo 16 ore.

Subito dopo il posizionamento dei germogli in vasca e prima dell'avvio degli esperimenti si è registrato un tasso di mortalità piuttosto elevato a causa di una infezione fungina (Fig. 1.4). Tuttavia dopo le prime settimane l'incidenza del fungo si è sensibilmente ridotta. La mortalità dovuta all'infezione fungina si è attestata intorno al 40%. Si ritiene che il posizionamento in vasca di frutti interi (comprendenti l'involucro esterno poroso, detto pericarpo) possa aver incrementato notevolmente la proliferazione dei funghi in quanto è probabile che l'involucro esterno di cui si compone il frutto possa essere un vettore di patogeni.

Inoltre inizialmente frutti e semi sono stati posti in posizione ravvicinata gli uni rispetto agli altri e questo potrebbe aver ridotto l'ossigenazione e facilitato la proliferazione del fungo e quindi la contaminazione di più individui. Buona norma per l'allevamento in vasca di germogli è quella di eliminare l'involucro che costituisce il frutto, ove presente, prima di porre i semi in vasca o acquario, di spaziare il più possibile i germogli tra loro e garantire una buona ossigenazione con agitatori per acquari o pompe apposite.

Inoltre la messa a punto di un protocollo di disinfezione specifico per semi e germogli di *P. oceanica* potrebbe contribuire a ridurre l'incidenza di infezioni dovute a patogeni in futuro. Per questo campioni del micelio fungino sono stati inviati ad un laboratorio specializzato per l'identificazione del fungo e di possibili antimicotici da utilizzare al fine di ridurre la mortalità dovuta a questo fattore.



Fig. 1.1: Semi di *P. oceanica* posti in vasca: la germinazione avviene immediatamente dopo il rilascio

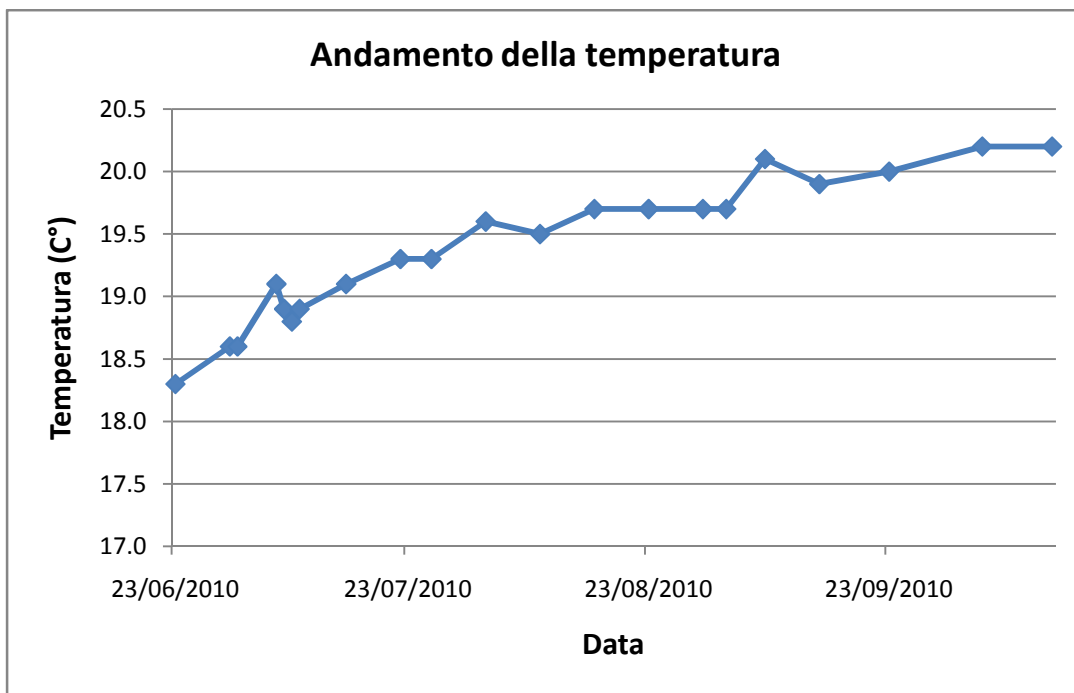


Fig. 1.2: Andamento della temperatura all'interno delle vasche nel periodo di sperimentazione

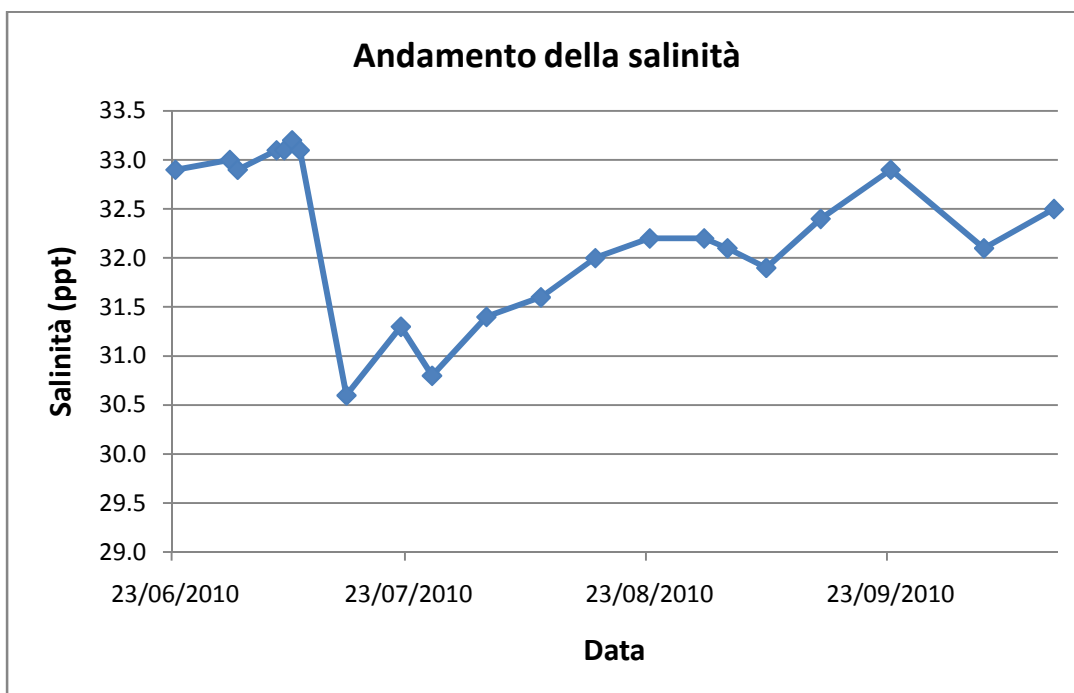


Fig. 1.3: Andamento della salinità all'interno delle vasche nel periodo della sperimentazione



Fig. 1.4: Confronto tra un germoglio sano, sulla destra ed un germoglio attaccato da funghi, sulla sinistra.

1.4 Primo esperimento: insediamento ed accrescimento di germogli di *Posidonia oceanica* su diverse tipologie di substrato

1.4.1 Obiettivi specifici

Questa prima sperimentazione ha lo scopo di valutare l'influenza della tipologia e complessità del substrato sulle prime fasi del ciclo vitale della pianta, in particolare sui processi di dispersione (valutazione qualitativa), di ancoraggio e di accrescimento del germoglio.

1.4.2 Progettazione e realizzazione dell'esperimento

Sono state scelte due tipologie di substrato: sabbia(i) e roccia calcarea (ii). Su roccia sono stati ottenuti diversi livelli di complessità utilizzando assemblaggi di rocce di pezzature differenti.

Sono state utilizzate rocce di quattro pezzature diverse denominate di seguito: Big, Medium big, Medium small, Small, i cui valori medi di volume \pm l'errore standard sono riportati in figura 1.5.

Taglia	Vol. medio (cm ³)	± 1 SE
Big	2120.92	98.39
Medium big	1079.55	62.47
Medium small	451.77	30.52
Small	69.15	5.84

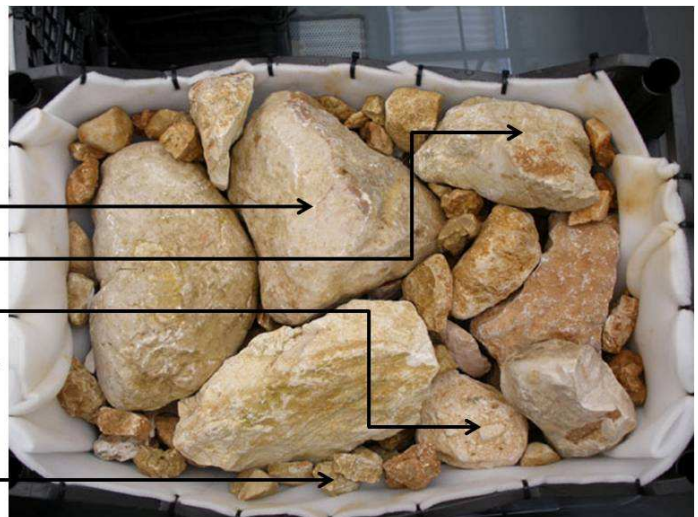


Fig. 1.5: volume medio \pm Errore Standard (SE) delle quattro differenti pezzature di rocce utilizzate.

Sono stati ottenuti quattro trattamenti, il primo costituito da sabbia e gli altri tre ottenuti assemblando in differenti quantità le rocce delle quattro pezzature scelte. Le rocce sono state poste in contenitori trasportabili ("cassette") delle dimensioni di 25 x 30 x 50 cm, ciascuno dei quali costituiva una unità sperimentale. La complessità dei trattamenti su roccia è stata quantificata in base al volume

interstiziale. Questo valore è stato ottenuto sottraendo dal volume delle cassette quello occupato dalle rocce. Di seguito viene elencata la composizione di ciascun trattamento espressa come percentuale del volume complessivo della cassetta occupato da ciascuna taglia di rocce che compone il trattamento, e viene riportato anche il volume interstiziale medio per trattamento:

1. **Sabbia:** sabbia carbonatica, granulometria 1-2mm(Fig. 1.6)



Fig. 1.6: Cassetta riempita con sabbia

2. **Big:** solo rocce di taglia Big (Fig. 1.7)

Composizione	Volume interstiziale
100% Big	11160.63 cm ³



Fig. 1.7: Trattamento Big

3. **Big and small:** rocce di taglia Big e Small (Fig. 1.8)

Composizione	Volume interstiziale
76.09% Big	1940.08 cm ³
23.91% Small	



Fig.1.8: Trattamento Big and Small

4. **All size:** rocce di 4 differenti pezzature: Big , Medium big, Medium small e Small (Fig. 1.9)

Composizione	Volume interstiziale
30.61% Big	5858.26 cm ³
22.33% Medium Big	
22.06% Medium Small	
30.61% Small	



Fig. 1.9: Trattamento All size

Ogni trattamento è stato replicato otto volte. Sono state quindi predisposte otto vasche di dimensioni medie 1mx1mx1.5m, ciascuna delle quali conteneva una unità sperimentale per ogni trattamento.

Il disegno sperimentale adottato ha previsto quindi i seguenti fattori:

1) Natura e complessità del substrato

Trattamenti (4):

- Sabbia: **Sand**
- Rocce Grandi: **Big**
- Rocce Grandi e Piccole: **Big and small**
- Rocce di 4 differenti pezzature (Big, small, medium big, medium small): **All size**

2) Vasca: 8 livelli: vasca 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8.

Repliche per vasca (n) = 15, ciascuna costituita da un germoglio

Le variabili di risposta considerate nell'esperimento sono state:

- **Percentuale di sopravvivenza:** numero di germogli sopravvissuti/ numero totale di germogli
- **Incidenza dell'infezione micotica:** espressa come tasso dell'incidenza dell'infezione micotica (numero di germogli colpiti da infezione micotica /numero totale di germogli per vasca)
- **Probabilità di ancoraggio:** espressa come tasso di ancoraggio del germogli (numero di germogli ancorati/ numero totale di germogli per vasca)
- **Forza di ancoraggio:** valore massimo registrato nell'operazione di separazione del germoglio dal substrato su cui è ancorato, espressa in Kg (forza peso)
- **Capacità del substrato di trattenere i germogli:** espresso come tasso di germogli trattenuti dal substrato, cioè non caduti sul fondo delle cassette (numero di germogli trattenuti dal substrato/ numero totale di germogli per vasca)
- **Accrescimento:** espresso come lunghezza complessiva del germoglio in cm, misurato al termine dell'esperimento

In una fase successiva è previsto lo studio dell'allocazione della biomassa (variabili morfologiche) quindi l'esecuzione delle analisi biometriche (determinazione delle dimensioni del seme, numero di foglie per fascio, lunghezza e ampiezza delle foglie, numero e lunghezza delle radici) e della biomassa (rapporto tra biomassa epigeo ed ipogea, rapporto tra la biomassa delle radici: seme: foglie) e la valutazione della velocità e percentuale di utilizzo delle risorse presenti nel seme attraverso la determinazione del contenuto di carbonio, azoto, fosforo e carbonio dei carboidrati non strutturali

L'idrodinamismo locale è fondamentale nel determinare la dispersione dei semi e nell'influenzare l'attecchimento dei germogli, dunque un punto importante è capire come l'idrodinamismo possa interagire con la natura e complessità del substrato producendo *pattern* di dispersione /ritenzione dei germogli e determinando o meno l'ancoraggio e la persistenza dei germogli in situ. Per questo periodicamente è stato simulato un movimento delle acque in modo qualitativo. Questa simulazione è stata fatta due volte a settimana nelle prime settimane e successivamente una volta a settimana. Il sistema adottato rappresenta solo una approssimazione di quello che potrebbe avvenire in ambiente naturale, in quanto non riproduce quantitativamente il regime del moto ondoso e delle correnti che si potrebbe avere nel sito target di una ipotetica iniziativa di ripristino, tuttavia può darci una prima idea di come il germoglio interagisca con il substrato in presenza di moto ondoso o correnti. D'altra parte se avessimo condotto l'esperimento in condizioni di acque ferme ci saremmo mossi in uno scenario irrealistico. Questo chiaramente introduce una sorgente di incertezza nell'esperimento e pone l'esigenza di approfondire la sperimentazione in ambiente naturale.

L'esperimento ha avuto inizio il 23/06/2010 quando i germogli di età compresa tra 1 settimana ed un mese circa sono stati seminati randomicamente sui substrati preparati (Fig. 1.10; 1.11). Sono stati posti 15 germogli per cassetta. L'esperimento si è concluso il 12/10/2010. Le singole cassette sono state disassemblate (Fig. 1.12; 1.13) è stato registrato il numero di germogli vivi e morti, l'eventuale presenza di funghi ed il numero di germogli ancorati al substrato. I germogli, ove ancorati, sono stati staccati dal substrato tramite un cappio in filo metallico collegato ad un dinamometro (portata 3 kg, sensibilità 2g)

(Fig.1.14). Il picco massimo della forza applicata affinché il germoglio si staccasse dal substrato è stata registrata. I germogli sono stati misurati, fotografati e congelati per le successive analisi morfologiche e chimiche (Fig.1.15). Tutte le operazioni sono state filmate.

Due cassette per trattamento per un totale di otto cassette non sono state disassemblate e sono state trasferite a mare nel mese di novembre 2010, dunque i dati presentati si riferiscono alle sei cassette per trattamento.

Sui dati è stata eseguita l'analisi della varianza (ANOVA) per evidenziare differenze statisticamente significative tra le medie dei trattamenti. Prima di procedere all'analisi dei dati l'omogeneità delle varianze è stata testata tramite il test di Cochran's. Dove l'analisi ha rilevato differenze significative tra trattamenti questi sono stati comparati a posteriori usando il test di Student–Newman-Keuls (SNK test).



Fig. 1.10: Dimensioni del germoglio al momento della semina



Fig. 1.11: Germogli appena seminati su sabbia, a sinistra, e su un trattamento composto da sole rocce "Big".



Fig. 1.12: Le unità sperimentali al termine dell'esperimento



Fig. 1.13: Disassemblaggio delle cassette.



Fig.1.14: Misura della forza di ancoraggio del germoglio al substrato. La foto in alto a sinistra ha funzione esplicativa e mostra come veniva posizionato il cappio intorno al germoglio prima di tirarlo via dal substrato. Ovviamente questa operazione veniva fatta sotto la superficie dell'acqua, su germogli ancora ancorati sulle rocce.



Fig.1.15: Misura complessiva dei germogli e conservazione in ghiaccio per le successive analisi morfologiche e chimiche.

1.4.3 Risultati

Sopravvivenza: complessivamente la sopravvivenza registrata al termine dell'esperimento è elevata (93.89%) e la mortalità complessiva si attesta intorno al 6%. L'analisi della varianza indica che non vi sono differenze significative nella sopravvivenza dei germogli tra substrato sabbioso e roccioso, né vi sono differenze significative tra trattamenti caratterizzati da complessità diverse (Fig. 1.16). La sopravvivenza dei germogli espressa in valore assoluto e percentuale è riportata in tabella 1.1 in totale, in funzione della natura del substrato ed in funzione dei diversi livelli di complessità prodotti.

	Sopravvivenza					
	n. Vivi	Morti	Tot	% Vivi	Morti	Tot
Totale Complessivo	338	22	360	93.89	6.11	100.00
Natura del Substrato						
Sand	85	5	90	94.44	5.56	100.00
Rock (tre trattamenti)	253	17	270	93.70	6.30	100.00
Complessità						
Sand	85	5	90	94.44	5.56	100.00
All size	82	8	90	91.11	8.89	100.00
Big	85	5	90	94.44	5.56	100.00
Big and Small	86	4	90	95.56	4.44	100.00

Tab.1.1: Sopravvivenza dei germogli espressi in valore assoluto e percentuale in totale, suddivisi in base alla tipologia di substrato e per singolo trattamento.

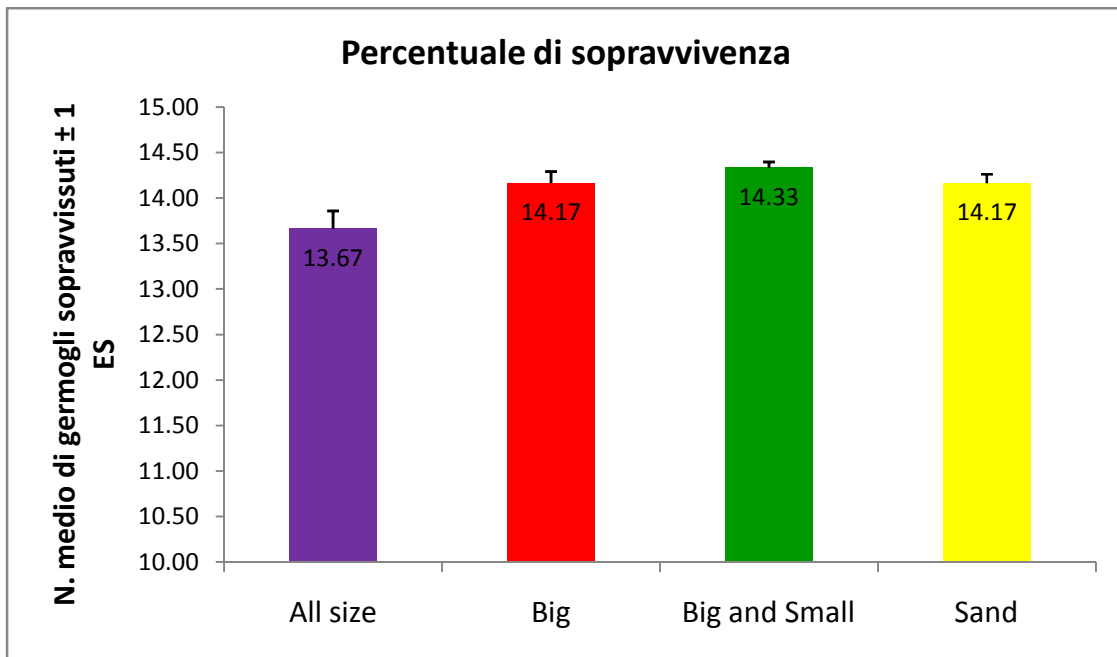


Fig. 1.16: Numero medio di germogli sopravvissuti per vasca \pm Errore Standard (ES) riportate per ciascun livello di complessità.

Incidenza dell'infezione micotica: il numero di germogli per vasca colpiti dall'infezione fungina dall'avvio dell'esperimento è piuttosto basso e compreso tra l'8% ed il 6% (Fig. 1.17). L'analisi della varianza non ha rilevato differenze nell'incidenza dell'infezione tra trattamenti, al contrario sono state rilevate differenze tra vasche, in particolare la vasca 5 del trattamento All Size differisce dalle altre e presenta un valore più elevato dell'incidenza dell'infezione (Tab. 1.2).

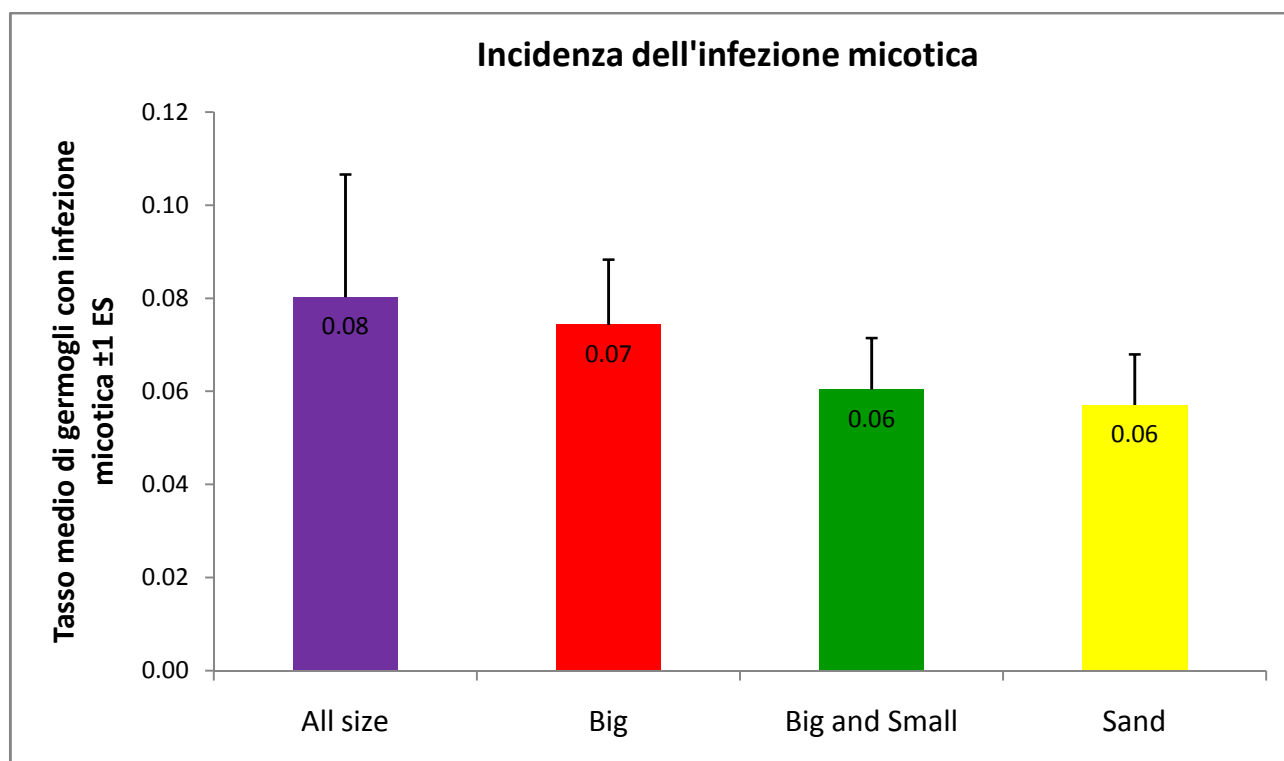


Fig. 1.17: Tasso medio dei germogli colpiti da infezione micotica per vasca \pm ES riportati per ciascun livello di complessità.

Fattore	Variazione
Complessità (Co)	NS
Vasca (V)	NS
Co x V	*

Tab.1.2: Risultati dell'ANOVA sul tasso medio di incidenza dell'infezione micotica. NS, non significativo, * significativo ($P < 0.05$).

Probabilità di ancoraggio: dopo quattro mesi il tasso medio di germogli ancorati al substrato varia tra 0 su sabbia e valori di 0.82 ± 0.06 su roccia (Fig. 1.18). L'ANOVA evidenzia che la probabilità di ancoraggio varia in maniera significativa tra i trattamenti ed è maggiore per i trattamenti All size, Big e Big and Small rispetto a Sand (Tab. 1.3). Nel'intero corso dell'esperimento non si è registrato l'ancoraggio dei germogli su sabbia. Non vi sono differenze significative nella probabilità di ancoraggio tra i tre livelli di complessità prodotti su roccia (Tab. 1.3).

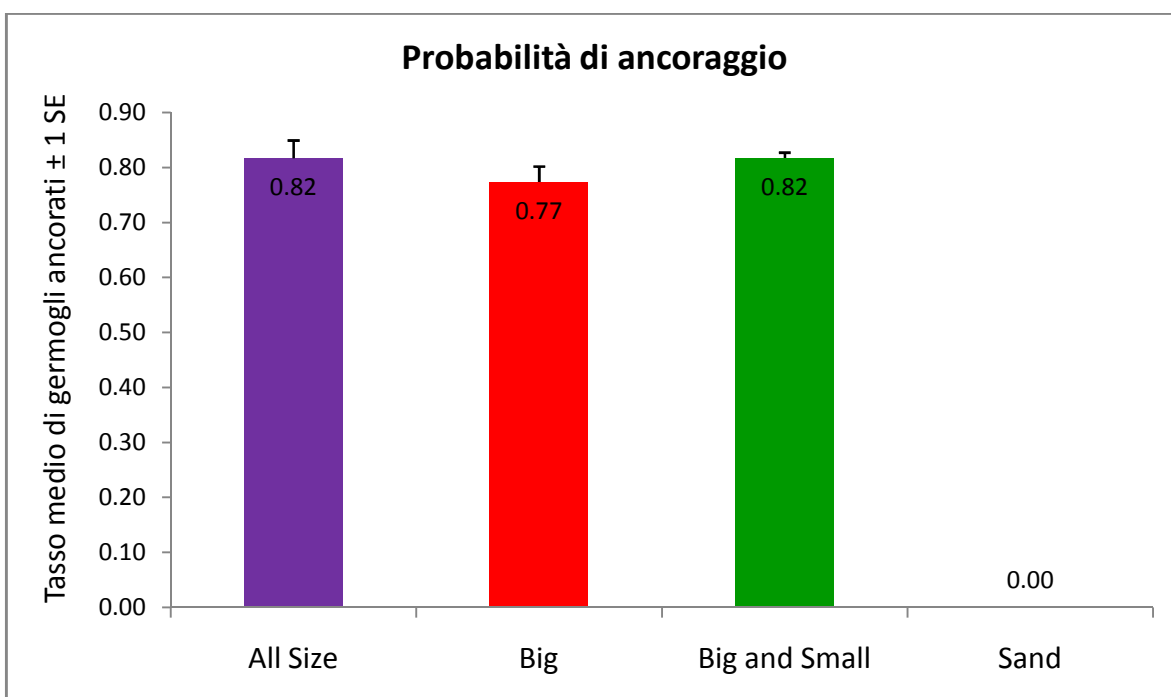


Fig.1.18: Tasso medio di germogli ancorati per vasca \pm Errore Standard (ES) per trattamento.

Fattore	Variazione
Complessità (Co)	*
Vasca (V)	NS
Co x V	NS
SNK test	
Complessità	All size= Big = Big and Small > Sand

Tab.1.3: Risultati dell'ANOVA condotta sul tasso medio di germogli ancorati per vasca e risultati dell'SNK test. NS, non significativo, * significativo ($P < 0.05$).

Forza di ancoraggio: la forza di ancoraggio dei germogli al substrato varia da valori massimi di 2.1 Kg su roccia a 0 su sabbia (Fig. 1.19). L'ANOVA ha rilevato differenze significative tra i trattamenti, la forza di ancoraggio nei trattamento su roccia è significativamente maggiore di quella registrata su sabbia (Tab. 1.4). Se si escludono i valori riferiti al trattamento su sabbia, ove non vi è ancoraggio dei germogli, il valore medio registrato per la forza di ancoraggio si attesta a 0.209 ± 0.022 kg. Non vi sono differenze significative nei valori della forza di ancoraggio tra le diverse complessità prodotte su roccia (Tab. 1.4)

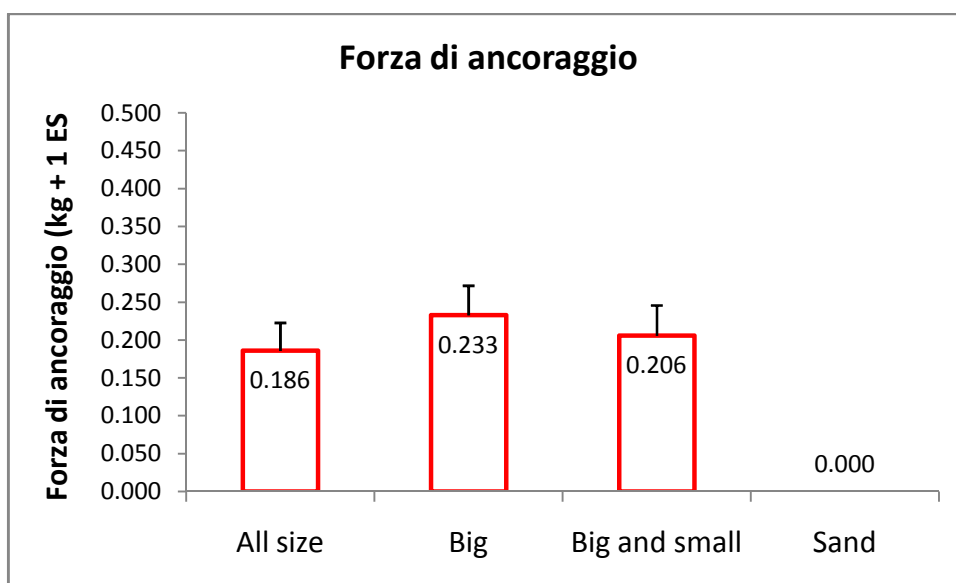


Fig. 1.19: Valori medi della forza di ancoraggio dei germogli al substrato + 1 Errore Standard (ES) per trattamento.

Fattore	Variazione
Complessità (Co)	*
Vasca (V)	NS
Co x V	NS

SNK test

Complessità	All size = Big = Big and Small > Sand
-------------	---------------------------------------

Tab.1.4: Risultati dell'ANOVA condotta sulla forza media di ancoraggio dei germogli al substrato e risultati dell'SNK test. NS, non significativo, * significativo ($P < 0.05$).

Documentazione fotografica dell'ancoraggio: nelle figure 1.20 ed 1.21 si riportano alcuni esempi di come l'apparato radicale possa svilupparsi su substrato roccioso aderendo ad esso seguendone in parte la morfologia.

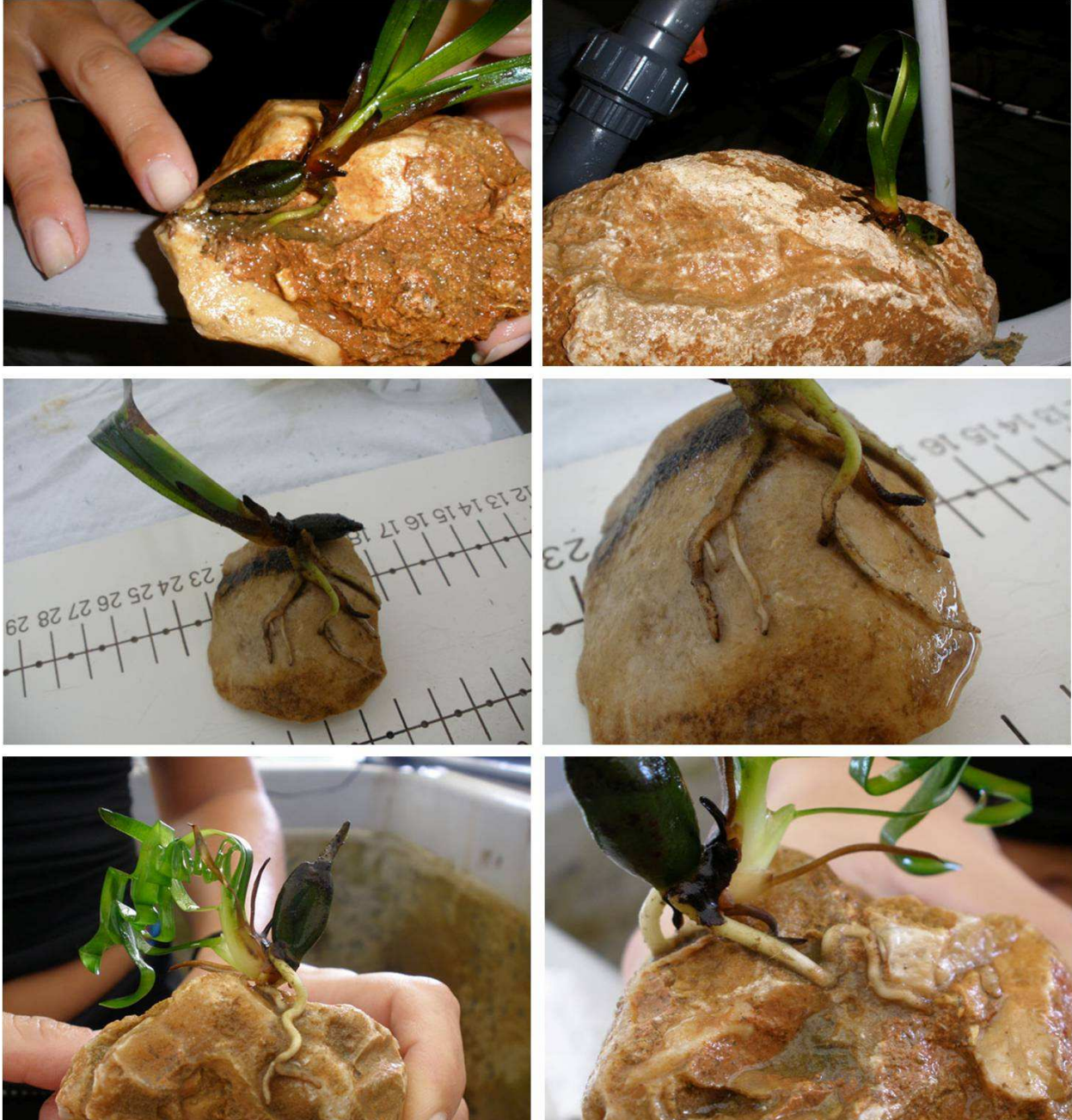


Fig. 1.20: documentazione fotografica dell'ancoraggio su roccia, esempi di come l'apparato radicale può accrescersi seguendo la morfologia del substrato



Fig. 1.21: documentazione fotografica dell'ancoraggio su roccia, nelle prime quattro foto viene mostrato lo stesso germoglio le cui radici sono penetrate all'interno de fessure e fori presenti sul ciottolo

Capacità del substrato di trattenere i germogli: il tasso di germogli trattenuti dal substrato, cioè che non si ritrovano sul fondo delle cassette, varia tra 1 (la totalità dei germogli) su sabbia e 0.79 ± 0.06 sul trattamento composto da sole rocce grandi (Fig. 1.22). L'ANOVA indica che vi sono differenze significative tra i livelli di complessità su roccia e che il trattamento composto da sole rocce grandi ha una minore capacità di trattenere i germogli rispetto agli altri trattamenti, mentre non vi sono differenze nella capacità di ritenzione dei germogli tra Sand, All size e Big and small (Tab. 1.5).

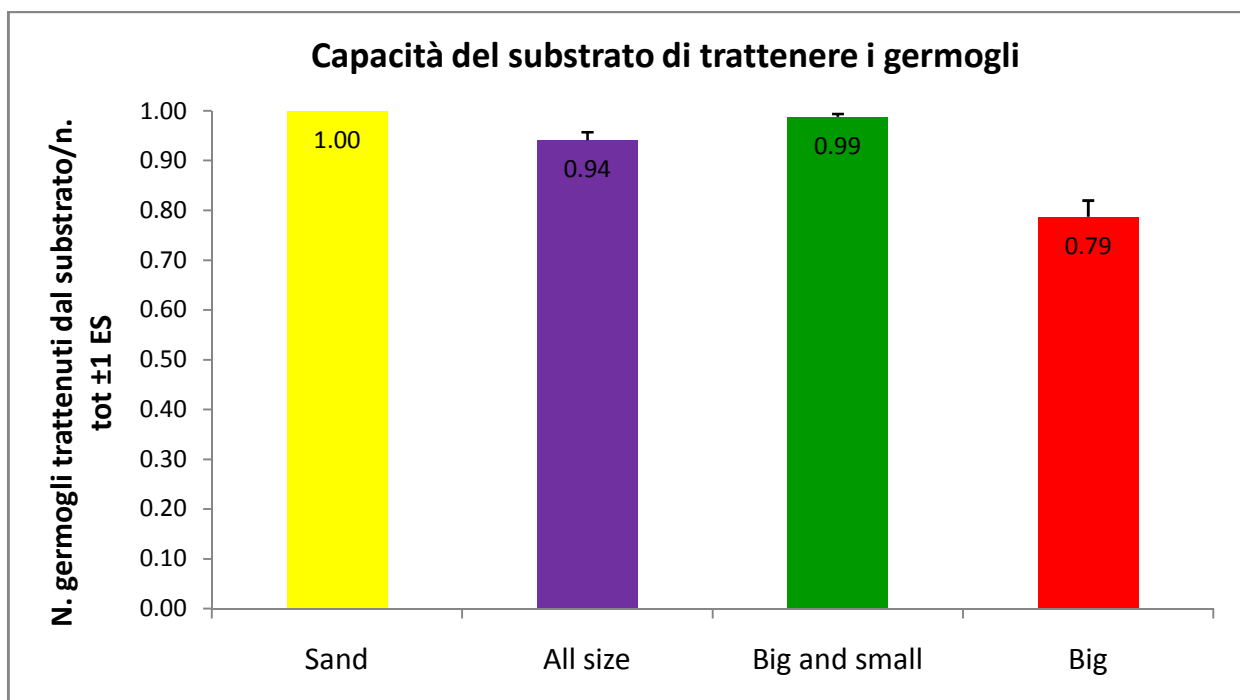


Fig. 1.22: Tasso medio dei germogli trattenuti dal substrato \pm Errore Standard (ES) riportato per trattamento.

Fattore	Variazione
Complessità (Co)	**
Vasca (V)	NS
Co x V	NS

SNK test	
Complessità	Sand = All size = Big and Small < Big

Tab.1.5: Risultati dell'ANOVA condotta sul tasso medio di germogli trattenuti dal substrato e risultati dell'SNK test. NS, non significativo, ** significativo ($P < 0.001$).

Accrescimento del germoglio: al momento dell'avvio dell'esperimento i semi avevano appena iniziato a germogliare ed avevano una lunghezza di circa 3-4 cm. Al termine dell'esperimento la lunghezza complessiva del germoglio variava tra 3.0 cm a 23.0 cm, i valori medi per trattamento sono riportati in figura 1.23. L'ANOVA ha evidenziato differenze significative sia tra le diverse tipologie di substrato che tra vasche all'interno dello stesso trattamento, cosa che testimonia una elevata variabilità del parametro considerato (Tab. 1.6). L'accrescimento risulta quindi essere maggiore sui trattamenti Big e Big and Small rispetto ai trattamenti All size e Sand (Tab. 1.6).

L'accrescimento dei germogli durante il corso dell'esperimento su sabbia e su roccia sono evidenziati rispettivamente nelle figure 1.24 ed 1.25, in cui sono mostrate foto scattate in date progressive.

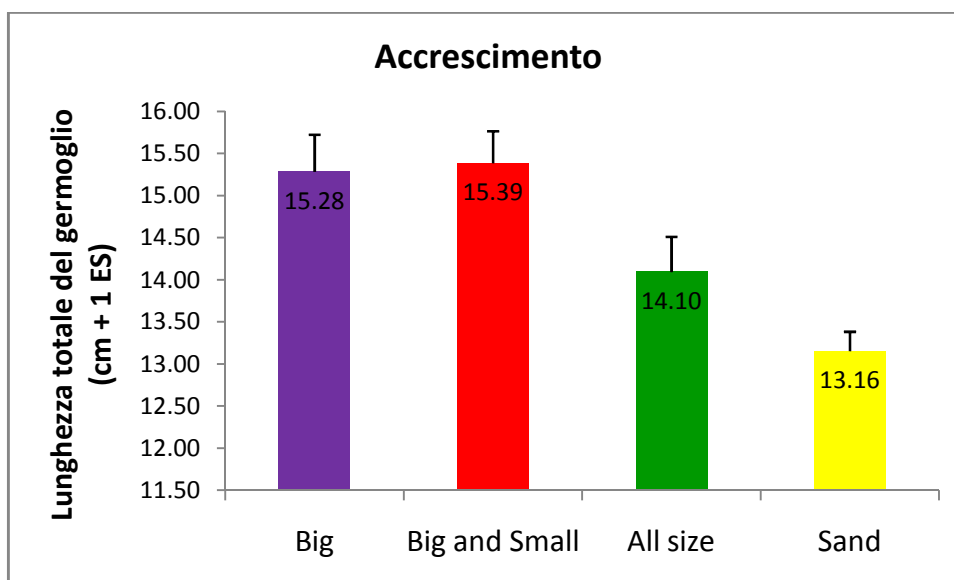


Fig. 1.23: Lunghezza media dei germogli al termine dell'esperimento \pm Errore Standard (ES) riportata per trattamento.

Fattore	Variazione
Complessità (Co)	**
Vasca (V)	**
Co x V	NS
SNK test	
Complessità	Big = Big and small > All size = Sand

Tab.1.6: Risultati dell'ANOVA condotta sulla lunghezza media dei germogli e risultati dell'SNK test. NS, non significativo, ** significativo ($P < 0.001$).



23/06/2010



6/07/2010



15/07/2010



26/07/2010



9/08/2010



23/08/2010



2/09/2010



23/09/2010



5/10/2010

Fig. 1.24: Accrescimento dei germogli su sabbia dal momento della semina (23/06/2010) al termine dell'esperimento. NB: le foto non sono in scala ma è possibile apprezzare lo sviluppo del germoglio leggendo le lunghezze dalla righella.



5/07/2010



16/07/2010



9/08/2010



23/08/2010



30/08/2010



14/09/2010



24/09/2010



11/10/2010

Fig. 1.25: Accrescimento dei germogli su roccia.

1.5 Secondo Esperimento: effetto dell'altezza della massicciata sulla sopravvivenza e sull'accrescimento dei germogli

1.5.1 Obiettivi specifici

Scopo dell'esperimento è valutare l'effetto di diversi livelli di altezza di una massicciata composta da rocce calcaree sulla sopravvivenza e l'accrescimento di germogli seminati su questa massicciata. Si assume che le dimensioni del seme e delle fessure tra rocce adiacenti siano tali da determinare la caduta del germoglio fino alla base della massicciata, dunque si vuole valutare l'effetto della riduzione della radiazione solare dovuta alla presenza di uno strato di rocce di taglia "Big", come definite nel primo esperimento, di altezza crescente sulla sopravvivenza ed accrescimento del germoglio. I risultati dell'esperimento indicheranno se all'aumentare dell'altezza della massicciata se registri un incremento della mortalità o una diminuzione dell'accrescimento dei germogli rispetto a quelli direttamente esposti alla radiazione solare ed eventualmente a quali valori di altezza della massicciata si comincino a risentire questi effetti.

1.5.2 Progettazione e realizzazione dell'esperimento

Rocce di taglia "Big", come definite nel primo esperimento (dimensioni medie riportate in Tab. 1.7), sono state poste in fusti in plastica di altezza predefinita. Sono state così realizzate massicciate di tre altezze differenti: 30 cm, 50 cm, 70 cm. I tre livelli di altezza della massicciata sono stati replicati tre volte e posti in altrettante vasche con circolazione indipendente (Fig. 1.26). Secondo gli assunti dell'esperimento i germogli sono stati posti vicino al fondo dei fusti: si è proceduto a stendere un primo strato di rocce sul quale sono stati seminati randomicamente 10 germogli per fusto, successivamente il fusto è stato riempito di rocce fino all'altezza prestabilita. La circolazione dell'acqua e l'ossigenazione all'interno dei fusti sono stati garantiti con rubinetti per l'ingresso dell'acqua posti all'interno del fusto ed con opportuni fori sul fondo, in modo da forzare il passaggio dell'acqua dentro i fusti ed evitare che una eventuale mortalità dei germogli potesse essere attribuita a condizioni di ipossia/anossia. Inoltre per evitare che la luce riflessa potesse giungere ai germogli posti vicino al fondo dai fori praticati alla base del fusto, sono stati scelti materiali scuri come basamenti dei fusti.

Dimensioni medie rocce taglia Big

	<i>Media (n = 43)</i>	<i>ES</i>
Lunghezza	18.16	0.39
Ampiezza	10.09	0.37
Altezza	11.79	0.40

Tab. 1.7: Dimensioni medie e Errore Standard (ES) delle rocce utilizzate nell'esperimento.



Fig. 1.26: Una delle tre vasche predisposta per il secondo esperimento, all'interno sono presenti una replica di altezza 30 cm, una di altezza 50 cm e una di altezza 70 cm.

Il disegno sperimentale adottato ha previsto quindi i seguenti fattori:

1) Altezza della massicciata

Trattamenti (3) (Fig. 1.27):

- 30 cm
- 50 cm
- 70 cm

2) Vasca: 3 livelli: A, B, C

Repliche per vasca (n) = 10, ciascuna costituita da un germoglio

Le variabili di risposta considerate nell'esperimento sono state:

- **Sopravvivenza:** espressa come tasso di mortalità dei germogli al termine dell'esperimento
(n. germogli non sopravvissuti/ n. totale germogli)
- **Accrescimento:** lunghezza complessiva dei germogli in cm al termine dell'esperimento

Successivamente verranno eseguite analisi biometriche e di biomassa e verrà determinata la concentrazione di clorofilla a nelle foglie per approfondire possibili effetti sull'accrescimento e sull'attività foto sintetica del germoglio in condizioni di ridotta disponibilità della radiazione luminosa.

L'esperimento ha avuto inizio il 9/07/2010 ed è terminato il 14/10/2010.

Sui dati è stata eseguita l'analisi della varianza (ANOVA) per evidenziare differenze statisticamente significative tra le medie dei trattamenti. Prima di procedere all'analisi dei dati l'omogeneità delle varianze è stata testata tramite il test di Cochran's. Dove l'analisi ha rilevato differenze significative tra trattamenti questi sono stati comparati a posteriori usando il test di Student-Newman-Keuls (SNK test).

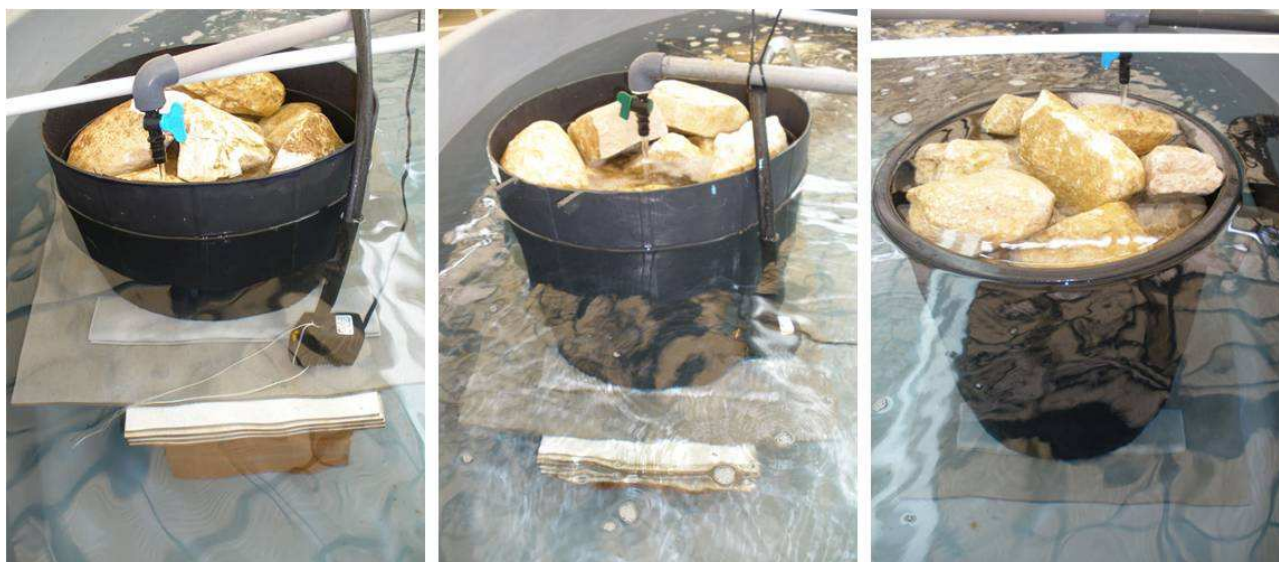


Fig. 1.27: Fusti di altezza crescente riempiti di rocce “Big” per la realizzazione dei tre diversi livelli di altezza della massiciata: da sinistra verso destra: trattamento 30 cm, 50 cm, 70 cm.

1.5.3 Risultati

Sopravvivenza: la mortalità complessiva al termine dell'esperimento ha raggiunto il 16.67%. Il tasso di mortalità registrato cresce dallo 0.07 ± 0.03 registrato sul trattamento da 30 cm di altezza allo 0.20 ± 0.10 sul trattamento da 50 cm fino ad un valore massimo di 0.23 ± 0.03 nel trattamento da 70 cm (Fig. 1.28). Tuttavia l'incremento del tasso di mortalità osservato all'aumentare dell'altezza della massicciata non risulta essere statisticamente significativo (Tab. 1.8).

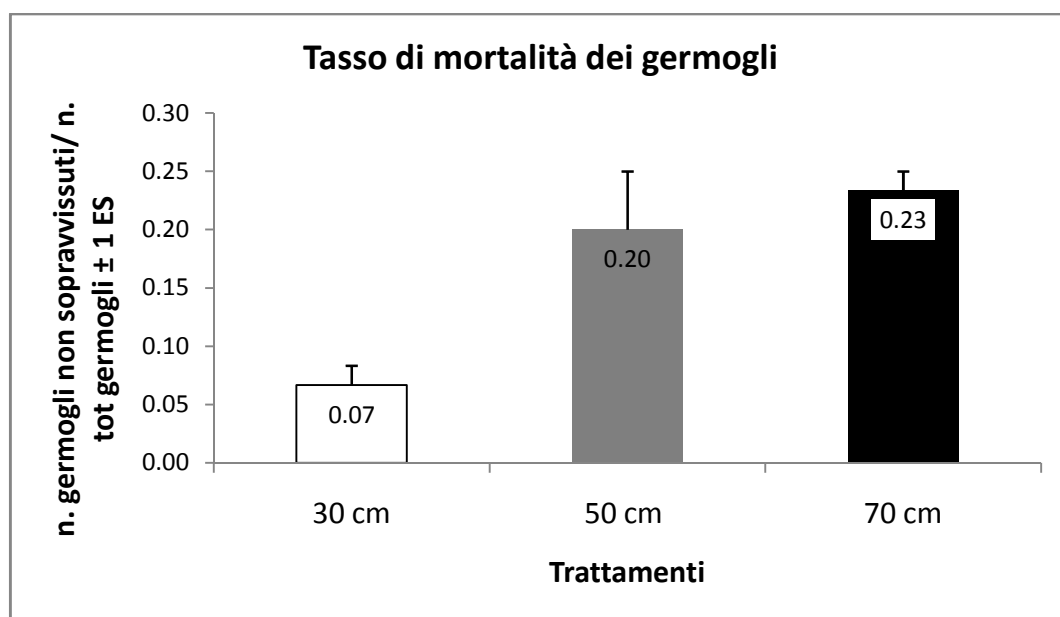


Fig. 1.28: Valore medio del tasso di mortalità dei germogli ± 1 Errore Standard per i tre livelli di altezza della massicciata.

Fattore	Variazione
Altezza (A)	NS
Vasca (V)	NS
A x V	NS

Tab. 1.8: Risultati dell'ANOVA sul il tasso di mortalità dei germogli tra diversi livelli dei trattamenti. NS, non significativo.

Accrescimento: al termine dell'esperimento la lunghezza media dei germogli ha un valore di 12.11 ± 0.58 nel trattamento da 30 cm di altezza, di 12.02 ± 0.61 nel trattamento da 50 cm e di 11.39 ± 0.98 nel trattamento da 70 cm di altezza (Fig. 1.29). L'analisi della varianza ha rilevato differenze significative nell'interazione tra il fattore altezza ed il fattore vasca: l'incremento di altezza della massicciata ha un effetto negativo sull'accrescimento del germoglio infatti la lunghezza complessiva risulta essere maggiore

nei trattamenti da 30 e 50 cm di altezza rispetto al trattamento da 70 cm, inoltre sono state rilevate differenze significative tra le vasche del trattamento da 30 cm (Tab. 1.9).

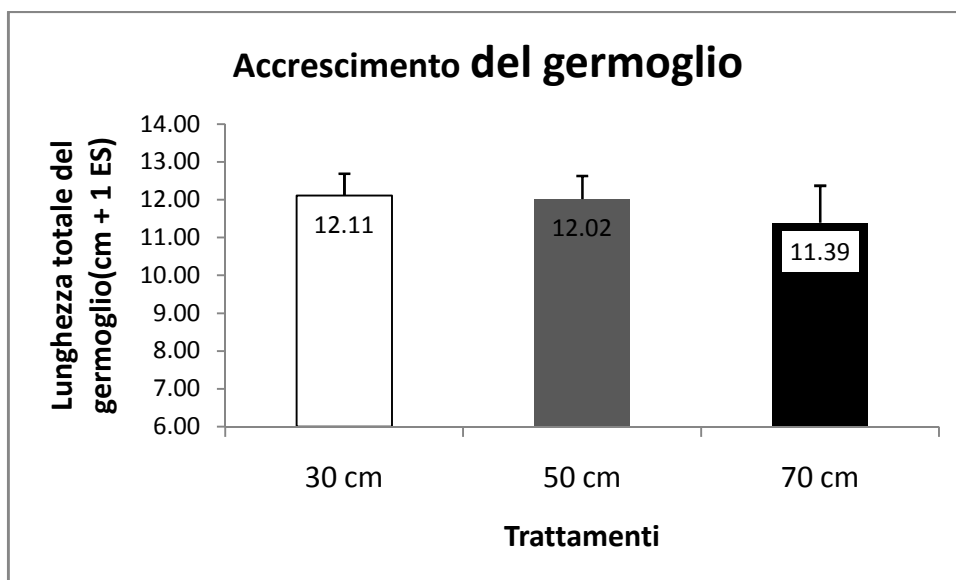


Fig. 1.29: Valore medio della lunghezza complessiva del germoglio ± 1 Errore Standard in funzione dei tre livelli di altezza della massicciata.

Fattore	Variazione
Altezza (A)	NS
Vasca (V)	NS
A x V	*

Snk test

30 = 50 > 70

Tab. 1.9: Risultati dell'ANOVA sull'accrescimento dei germogli tra diversi livelli dei trattamenti. NS, non significativo, * significativo ($P < 0.05$).

Documentazione fotografica: in figura 1.30 vengono mostrati germogli appartenenti ai tre trattamenti caratterizzati da diversa altezza della massicciata e per confronto viene anche riportata l'immagine di un germoglio allevato "in superficie", senza ostacoli che schermano la radiazione luminosa. Appare evidente la differenza di pigmentazione delle foglie.



≈ 0 cm



30 cm



Fig. 1.30: Confronto tra germogli allevati in assenza in superficie e al di sotto di una massicciata di rocce di altezza 30 cm, 50 cm, 70 cm.

1.6 Quarto esperimento: accrescimento dei germogli su supporti costituiti da ciottoli

1.6.1 Obiettivi specifici

Scopo dell'esperimento è valutare la capacità dei germogli di ancorarsi saldamente ad un supporto tramite l'accrescimento delle radici. L'esperimento darà anche la possibilità di osservare qualitativamente la modalità di accrescimento delle radici intorno ad un supporto e l'eventuale risposta del *pattern* di accrescimento al contatto con il substrato. Il germoglio con il supporto potranno costituire un'unica unità che in seguito potrà essere seminata su un substrato idoneo dando al germoglio maggiore stabilità e riducendo la probabilità di essere trasportato via da moto ondoso e correnti.

1.6.2 Progettazione e realizzazione dell'esperimento

Dopo varie prove si è deciso di utilizzare come supporto su cui fare accrescere i germogli un unico tipo di materiale, ovvero la stessa pietra calcarea utilizzata per gli altri esperimenti. Sono state scelte rocce di taglia Small, come definite nel primo esperimento (dimensioni medie in tab. 1.10). I germogli sono stati assicurati ai ciottoli in modo tale da garantire che ogni germoglio potesse accrescersi su un solo ciottolo, e che le radici non abbracciassero più ciottoli, il che avrebbe reso la semina sul campo difficoltosa. Si è scelto di sperimentare due modalità per assicurare il germoglio al ciottolo:

a) rete elastica (Fig. 1.31)

b) filo di nylon prima cucito su seme e poi legato al ciottolo (Fig. 1.32). L'operazione di foratura era stata già utilizzata in esperimenti precedenti senza effetti negativi sul germoglio. Il filo di nylon è stato scelto perché poteva determinare un minor disturbo per l'accrescimento del germoglio rispetto alla rete elastica.

Per ognuna delle due modalità sono state preparate 18 unità. Ciascuna unità è stata sospesa su assi poste al di sopra delle 3 vasche circolari. Le unità sono state distribuite ed intersperse tra le tre vasche circolari (Fig. 1.33).

Il disegno sperimentale ha quindi previsto i seguenti fattori:

- modalità di fissaggio: 2 livelli: Rete elastica, Filo di nylon
- vasca: 3 livelli. A, B, C

numero di repliche (n) = 6, ciascuna costituita da un germoglio

Le variabili di risposta considerate sono state:

- **Sopravvivenza** : percentuale di germogli sopravvissuti
- **Tenuta dell'unità germoglio-ciottolo nel tempo**: percentuale di germogli che restano fissati

sul supporto al termine dell'esperimento

- **Pattern di crescita delle radici**: Il pattern di accrescimento delle radici è stato seguito e documentato fotograficamente, inoltre viene riportato il numero di germogli per i quali l'accrescimento delle radici è avvenuto seguendo la morfologia del substrato

L'esperimento ha avuto inizio il 9/07/2010 ed è terminato il 14/10/2010.

Sui dati è stata eseguita l'analisi della varianza (ANOVA) per evidenziare differenze statisticamente significative tra le medie dei trattamenti. Prima di procedere all'analisi dei dati l'omogeneità delle varianze è stata testata tramite il test di Cochran's. Dove l'analisi ha rilevato differenze significative tra trattamenti questi sono stati comparati a posteriori usando il test di Student–Newman-Keuls (SNK test).

Dimensioni medie rocce taglia Small		
	<i>Media (n = 43)</i>	<i>ES</i>
Lunghezza (cm)	5.53	1.36
Ampiezza (cm)	4.20	1.13
Altezza (cm)	2.83	0.84

Tab. 1.10: Dimensioni medie ed Errore Standard (ES) delle rocce utilizzate nell'esperimento.



Fig. 1.31: Germoglio assicurato al ciottolo mediante rete elastica



Fig. 1.32: Germoglio assicurato al ciottolo mediante filo di nylon cucito sul seme



Fig. 1.33: Interspersione dei trattamenti rete elastica e filo di nylon nelle vasche.

1.6.3 Risultati

Sopravvivenza: La percentuale di sopravvivenza al termine dell'esperimento è piuttosto elevata, l'88.89% nel trattamento che utilizza filo di nylon ed il 100% nel caso venga utilizzata la rete elastica (Fig. 1.31). Non vi sono differenze significative tra le due modalità di ancoraggio utilizzate (Tab. 1.11).

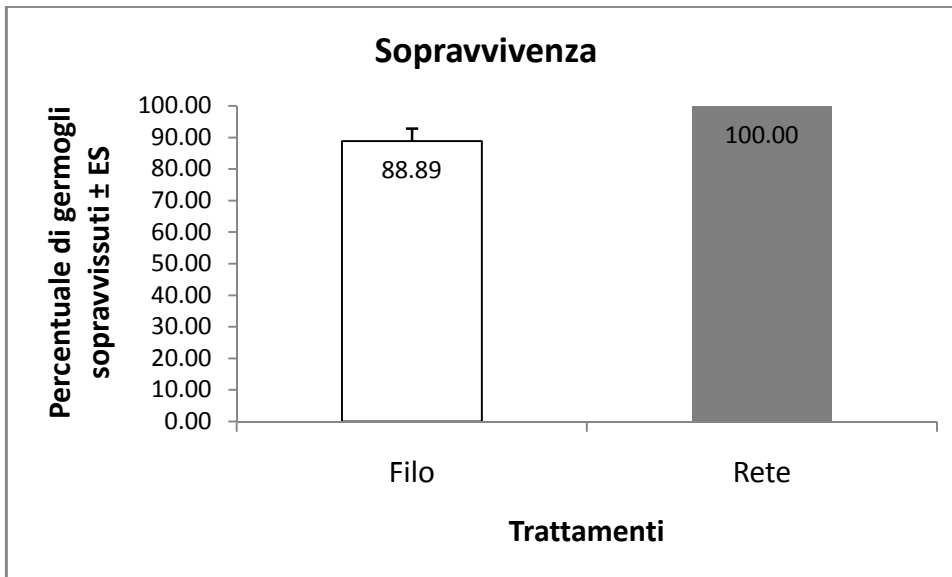


Fig. 1.31: Percentuale media per vasca di germogli sopravvissuti al termine dell'esperimento \pm Errore Standard (ES).

Fattore	Variazione
Modalità di fissaggio	NS

Tab. 1.11: Risultati dell'ANOVA condotta sulla percentuale di sopravvivenza. NS, non significativo.

Tenuta dell'unità germoglio-ciottolo nel tempo: la tenuta dell'unità germoglio ciottolo nel tempo è piuttosto elevata in entrambi i trattamenti: nessun germoglio fuoriesce dalla retina con cui era stato assicurato al ciottolo nel trattamento che utilizza la rete elastica, al contrario, nel caso dell'utilizzo del filo di nylon a volte il filo si "svolge" ed il germoglio si stacca dal ciottolo. La tenuta è comunque piuttosto elevata anche nel caso dell'utilizzo del filo di nylon (Fig. 1.32) e non vi sono differenze significative tra i due trattamenti (Tab. 1.12).

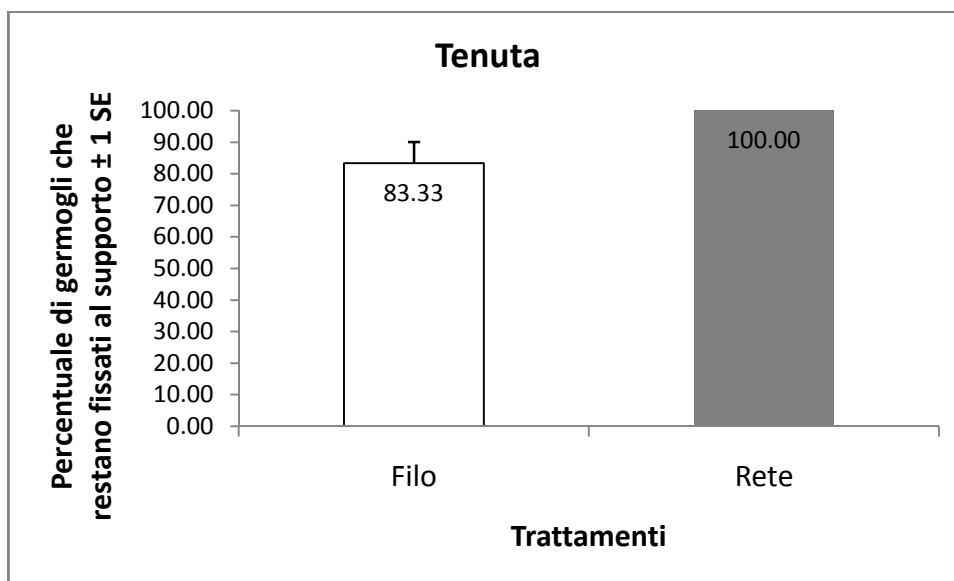


Fig. 1.32: Percentuale media per vasca di germogli che restano fissati al supporto al termine dell'esperimento \pm Errore Standard (ES).

Fattore	Variazione
Tenuta	NS

Tab. 1.12: Risultati dell'ANOVA condotta sulla tenuta nel tempo dell'unità ciottolo-germoglio. *NS*, non significativo.

Pattern di crescita delle radici: la percentuale di germogli per cui l'accrescimento delle radici ha seguito la morfologia del substrato è del 38.89 % nel trattamento che utilizza il filo di nylon e del 44.44% nel trattamento che utilizza la rete elastica (Fig. 1.33). Non vi sono differenze significative tra trattamenti (Tab. 1.13). Complessivamente nel 41.67% dei casi l'accrescimento delle radici ha seguito la morfologia del supporto. Le radici in questo caso risultano adese al supporto determinando l'ancoraggio del germoglio al ciottolo.

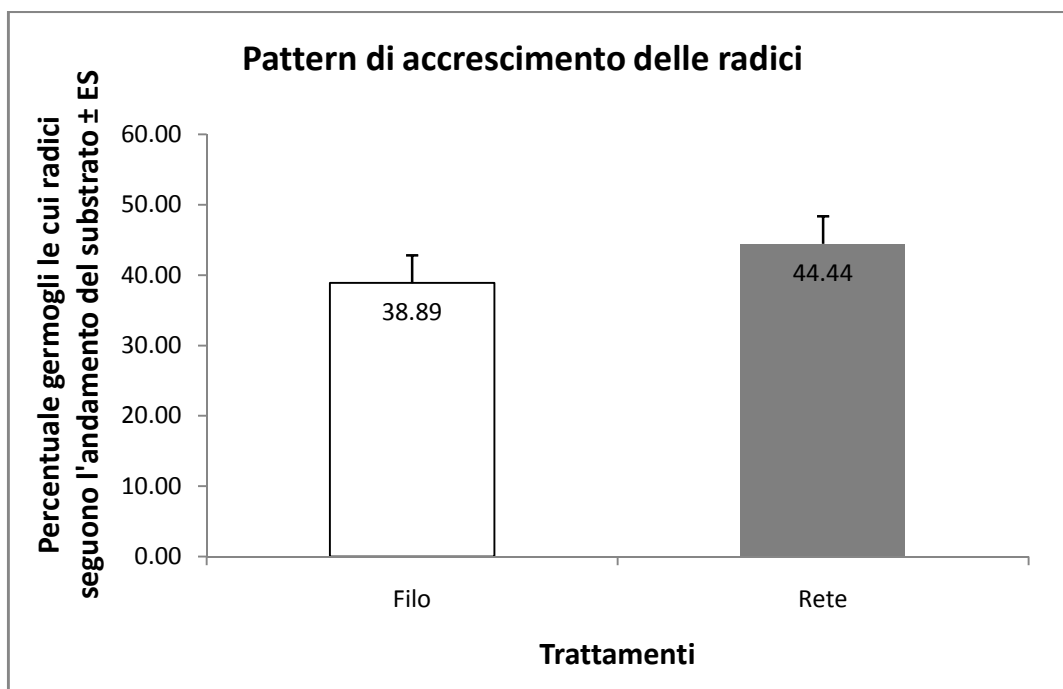


Fig. 1.33: Percentuale media per vasca di germogli le cui radici seguono l'andamento del substrato \pm Errore Standard (ES).

Fattore	Variazione
Tenuta	NS

Tab. 1.13: Risultati dell'ANOVA condotta sul pattern di accrescimento delle radici. *NS*, non significativo.

Documentazione fotografica: in figura 1.34 ed 1.35 sono riportati alcuni esempi di come le radici del germoglio possano svilupparsi sul ciottolo ed aderire ad esso seguendone la morfologia.



Fig. 1.34: esempi di accrescimento delle radici sui ciottoli in funzione della morfologia del substrato.



Fig. 1.35: esempi di accrescimento delle radici attorno ai ciottoli in funzione della morfologia del substrato.

1.7 Discussione generale

La raccolta di frutti, semi e germogli si è rivelata un metodo veloce e poco costoso per ottenere materiale biologico più che sufficiente per avviare le sperimentazioni programmate. L'allevamento in impianto di acquacoltura non ha posto particolari problemi, anzi semi e germogli hanno mostrato una buona sopravvivenza e vitalità anche quando i valori di salinità nelle acque dell'impianto erano più bassi rispetto ai valori medi presenti in ambiente naturale (mediamente 35 ppt). La germinazione è iniziata subito e la quasi totalità dei semi ha iniziato a germogliare. Durante le prime due - tre settimane di vita si è registrata una mortalità consistente (40%) e sensibilmente più elevata rispetto a quella riscontrata successivamente nel corso degli esperimenti (6% nel primo esperimento dopo quattro mesi) dovuta ad una infezione micotica che attacca il seme e lo degrada rapidamente. L'involucro esterno che costituisce il frutto si ritiene possa essere un vettore di patogeni ed il suo mantenimento sui semi raccolti e posti in vasca anche per pochi giorni può aver incrementato molto la proliferazione del fungo.

Nel primo esperimento la mortalità dei germogli è stata complessivamente bassa (6%) e per lo più attribuibile al fungo (incidenza dell'infezione fungina tra 6% ed 8%).

La natura del substrato influisce fortemente sul processo di ancoraggio, infatti nel corso dell'esperimento non si registra ancoraggio dei germogli su sabbia mentre nei trattamenti costituiti da roccia la probabilità che il germoglio si insedi sono elevate e si aggirano intorno all'80%, al contrario non vi sono differenze tra i tre livelli di complessità testata su roccia. Su sabbia le radici del germoglio cominciano a penetrare nel substrato ma poiché il "moto ondoso" simulato determina lo spostamento dei granelli di sabbia e del germoglio stesso le radici non riescono a penetrare nel sedimento e a stabilizzare il germoglio. Su roccia al contrario in presenza di movimento dell'acqua, i germogli tendono a spostarsi fino a posizionarsi nelle fessure tra rocce, di dimensioni variabili a seconda del trattamento prodotto, e progressivamente, con le successive simulazioni, tendono a raggiungere un assetto più o meno stabile. A questo punto il germoglio può ancorarsi stabilmente: il substrato roccioso, consolidato, costituisce una base stabile, che non si sposta in presenza del movimento dell'acqua, allo stesso tempo le rocce che circondano il germoglio forniscono una certa protezione dal "moto ondoso" che potrebbe scalzarlo.

Al termine dell'esperimento è stato possibile misurare la forza di ancoraggio del germoglio con valori che raggiungono 2.1 kg di forza peso applicata ed un valore medio di 0.209 ± 0.022 kg di forza peso. La forza di ancoraggio del germoglio al substrato deriva da due componenti: da una parte le radici aderiscono al substrato roccioso tramite peli radicali, dall'altra l'apparato radicale si accresce tra le rocce e le radici possono creare una resistenza meccanica quando si cerca di estirpare il germoglio.

La complessità del substrato influisce in modo significativo sulla capacità di trattenere i germogli ed evitare che cadano verso il basso, in profondità, dove l'intensità della radiazione luminosa potrebbe non essere sufficiente a garantirne la sopravvivenza e l'accrescimento. Il trattamento composto da sole rocce "big", che presenta un maggior volume degli spazi interstiziali, si rivela anche quello meno capace di trattenere i germogli.

Al termine del primo esperimento i germogli di circa quattro mesi di età hanno raggiunto una lunghezza media di 14.48 ± 0.36 . Natura e complessità del substrato influiscono sull'accrescimento dei germogli nell'esperimento, infatti un maggiore accrescimento si registra nei trattamenti Big e Big and Small rispetto a All size e Sand. In base a quanto detto sopra avremmo potuto aspettarci un minor accrescimento nel trattamento Big, poiché i germogli scivolati verso il fondo avendo una minore disponibilità di luce avrebbero potuto accrescersi di meno rispetto ai germogli presenti negli altri trattamenti; tuttavia la lunghezza media dei germogli varia significativamente anche tra vasche testimoniando una elevata variabilità di questo parametro. Successive analisi biometriche e chimiche potranno chiarire il pattern di accrescimento dei germogli in funzione della natura e complessità del substrato nell'esperimento.

Nel secondo esperimento la mortalità complessiva è del 16.67%, un valore più elevato di quello riportato per il primo esperimento. La mortalità nel trattamento da 30 cm (7%) non si discosta molto da quella riscontrata nel primo esperimento (6%), al contrario i valori di mortalità riscontrati nei trattamenti da 50 e 70 cm risultano più elevati, anche se non in maniera statisticamente significativa. I germogli di circa quattro mesi di vita raggiungono una lunghezza media di 11.84 ± 0.72 , un valore più basso rispetto alla lunghezza media raggiunta dai germogli nel primo esperimento, in cui, nel peggiore dei casi, gli individui si trovavano sul fondo delle cassette, al di sotto quindi di uno strato di rocce di 25 cm. Nel secondo

esperimento l'incremento di altezza della massicciata a 70 cm determina una diminuzione significativa dell'accrescimento dei germogli. Inoltre il contenuto dei pigmenti nelle foglie appare sensibilmente minore già nel trattamento da 30 cm rispetto ad un germoglio cresciuto in superficie e si osserva una progressiva depigmentazione delle foglie all'aumentare dell'altezza della massicciata (Fig. 1.30), successive analisi potranno quantificare la riduzione di clorofilla a nelle foglie nei tre trattamenti. Tuttavia è da sottolineare come anche nel trattamento da 70 cm, i germogli si siano accresciuti fino a raggiungere una lunghezza di 11.39 ± 0.98 in quasi totale assenza di luce.

Complessivamente questi risultati indicano che la radiazione luminosa che raggiunge i germogli posti alla base della massicciata non è tale da garantire una attività fotosintetica sufficiente ad un normale accrescimento nel trattamento da 70 cm di altezza, inoltre la scarsa pigmentazione delle foglie fa sospettare che la radiazione non sia sufficiente neanche nei trattamenti da 50 cm e da 30 cm, con probabili ripercussioni negative sulla sopravvivenza ed accrescimento dei germogli nel tempo. Posto che semi o germogli seminati su massicciate di queste altezze possano effettivamente cadere fino al fondo della massicciata attraverso le fenditure tra le rocce, sarebbe preferibile aggiungere rocce di pezzatura minore a quelle di taglia Big nella composizione della massicciata per ridurre lo spazio interstiziale ed evitare la caduta dei germogli fino al fondo.

Nel quarto ed ultimo esperimento la mortalità si mantiene molto bassa e non ci sono differenze tra le due modalità di fissaggio del germoglio al substrato utilizzate, entrambi i metodi non danneggiano o disturbano l'accrescimento del germoglio. Una migliore tenuta dell'unità ciottolo-germoglio si ottiene nel caso venga utilizzata la rete elastica. Inoltre l'assemblaggio del germoglio con la rete elastica è notevolmente più semplice e veloce rispetto al filo di nylon ed è tanto più semplice quanto più il germoglio è poco sviluppato, poiché la presenza di radici e fascio fogliare ben sviluppati complicano l'operazione.

Questo esperimento ha consentito di osservare il *pattern* di accrescimento dell'apparato radicale dei germogli in risposta a stimoli esterni quali il contatto con il substrato e la forza di gravità a cui la radice è esposta continuamente. Complessivamente il 41.67% dei germogli al termine dell'esperimento mostra un accrescimento dell'apparato radicale che segue la morfologia del ciottolo. In figura 1.34 e 1.35 è possibile

osservare che le radici crescono seguendo strettamente la morfologia del ciottolo ed aderiscono ad esso attraverso i peli radicali oppure si proiettano verso il basso.

In alcune piante terrestri ove è stata studiata la risposta di accrescimento della radice al contatto ed alla forza di gravità (rispettivamente tigmotropismo e gravitropismo della radice) è stato dimostrato che le cellule “sensibili” a questi stimoli si trovano presso l’apice radicale e la risposta al contatto si può avere solo se queste cellule sono direttamente interessate dal contatto.

Nel nostro esperimento la morfologia dei germogli ed il modo in cui sono stati legati al ciottolo ha fatto sì che le radici e soprattutto gli apici radicali a volte si ritrovassero a contatto con il ciottolo stesso, altre volte invece non avessero alcun contatto. Facendo una valutazione qualitativa possiamo dire che ove gli apici radicali si trovavano a contatto con il ciottolo si è osservata una risposta della radice sia al contatto che alla gravità (cioè la radice si accresce seguendo la morfologia del ciottolo ma sempre verso il basso), nel caso in cui l’apice radicale non veniva a trovarsi a contatto con il substrato la radice si è sviluppata verso il basso, raggiungendo anche lunghezze notevoli (quasi 20 cm). Ove le radici si sono sviluppate aderendo al substrato il germoglio si trova saldamente ancorato al ciottolo. Per fare delle valutazioni più precise sulle risposte di crescita dell’apparato radicale dei germogli di *P. oceanica* agli stimoli esterni occorrerebbe progettare un esperimento *ad hoc*.

In base a questi risultati è comunque necessario assicurare il germoglio al supporto mediante un dispositivo simile alla rete elastica, in modo tale che comunque avvenga l’accrescimento delle radici, il germoglio resti attaccato al suo supporto e possa essere stabilizzato durante le prime fasi di insediamento.

Parte Seconda: ricognizione della prateria di Capo Feto

2.1 Ispezioni all'approdo costiero di Capo Feto

Le ispezioni sono state condotte nel mese di ottobre 2010 come stabilito tra i sei ed i dodici metri di profondità. E' stata esaminata tutta l'area del trench attraverso la realizzazione di transetti paralleli alla costa. Successivamente ci si è soffermati su particolari substrati o strutture per una visione di dettaglio raccogliendo materiale fotografico e filmati. I substrati esaminati sono stati: *Posidonia oceanica* integra, matte morta di *P. oceanica*, *P. oceanica* su "rubble mound" (cumuli di massi di calcare), sabbia e ghiaia, ciottoli, grandi massi isolati.

Di seguito riportiamo una descrizione generale dell'area seguita da una di maggiore dettaglio relativa ai principali substrati incontrati riferendoci alle immagini ed ai filmati più significativi per una maggiore e più semplice comprensione .

2.2 Transetti paralleli alla costa

I transetti paralleli alla costa hanno permesso di confermare come il confine tra prateria orientale ed il trench siano abbastanza netti, a volte segnati da uno scalino che porta all'interno della trincea (Fig. 2.1) in altri casi la trincea è preceduta da un posidonieto frammentato ed in parte insabbiato. Il limite orientale, laddove ricoperto da massi di calcare si presenta irriconoscibile rispetto alle ispezione effettuate negli anni 90. La quantità visibile di massi è molto piccola e le strutture a forma di cumulo (*mound*) prive di *Posidonia* che caratterizzavano il fondale a metà e verso la fine degli anni 90 non sono più riconoscibili. Procedendo verso occidente dominano i substrati sabbiosi e ghiaiosi alternati a ciottoli di piccola dimensione. A metà circa della trincea si trovano chiazze isolate di *Posidonia* e rocce di grandi dimensioni sparse sul fondo. Il limite occidentale della trincea non è facilmente riconoscibile, appare come un mosaico di substrati diversi dove la *Posidonia* compare nuovamente ma molto rada e sparsa, spesso presente con pochi rizomi isolati. Procedendo ancora verso occidente la matte morta inizia ad essere il substrato dominante che lentamente cede il posto al posidonieto. Non avendo le ispezioni lo scopo di valutare l'estensione del prato è difficile dire se il limite occidentale della prateria sia eroso rispetto alle conoscenze pregresse.



Fig. 2.1.: Limite orientale della trincea con scalino e *Posidonia oceanica* frammentata al di sopra dello scalino

Nel complesso l'intera area appare molto disturbata con diversi punti di sofferenza per la pianta, principalmente a causa di fenomeni d'insabbiamento. Fa eccezione la zona orientale della prateria che appare in condizioni migliori.

2.2.1 Prateria a *Posidonia oceanica* integra

La prateria quando lontana dalla trincea appare florida, sia per densità che per struttura dell'apparato fogliare (Filmati 551-555). Durante i giorni dell'ispezione solo una eccessiva torbidità è apparsa "anomala" al di fuori del trench, dove il prato appare continuo. Questa eccessiva torbidità potrebbe essere dovuta a normali eventi meteo marini come l'eccessiva piovosità dell'autunno 2010 e le mareggiate che hanno preceduto l'ispezione. Non è ovviamente da escludere anche un ruolo del trench e della grande quantità di sedimento al suo interno. In questo caso per potere affermare qualcosa con validità scientifica occorrerebbero analisi specifiche e la disponibilità di aree di controllo la qual cosa esula dallo scopo di questa ispezione. La prateria appare su matte, specialmente alle quote più basse e su matte e roccia a quote più elevate, termina bruscamente o è altamente frammentata nella porzione orientale mentre è sfrangiata in quella occidentale. Alle quote inferiori parte della prateria è interessata ad un

processo di insabbiamento dovuto al movimento di grandi masse di sabbia e ghiaia (Vedi capitolo su sabbia e ghiaia).

2.2.2 Matte morta di *Posidonia oceanica*

Gran parte della prateria orientale a confine con la trincea è caratterizzata da vaste matte di *Posidonia* morta (Fig. 2.2). Le cause di questo degrado sono attribuibili in piccola parte ad un diretto danno meccanico causato ai tempi degli scavi della trincea ed in gran parte da fenomeni di insabbiamento. Le matte si presentano quasi sempre colme o semicolme di un sedimento sabbioso e ghiaioso e molto spesso le matte sono completamente ricoperte da sedimento. E' plausibile che il sedimento, spostato da moto ondoso e correnti, ricopra periodicamente porzioni di prateria o di matte già morta per poi venire ribasso da successivi fenomeni idrodinamici. Sembrerebbe che la grande disponibilità di un sedimento all'interno della trincea interessi negativamente la principalmente la porzione di prateria occidentale, le poche zolle sopravvissute nella porzione centrale ed in minor parte anche la porzione orientale dove, come vedremo, il fenomeno è in parte compensato dalla presenza dei *rubble mound*.

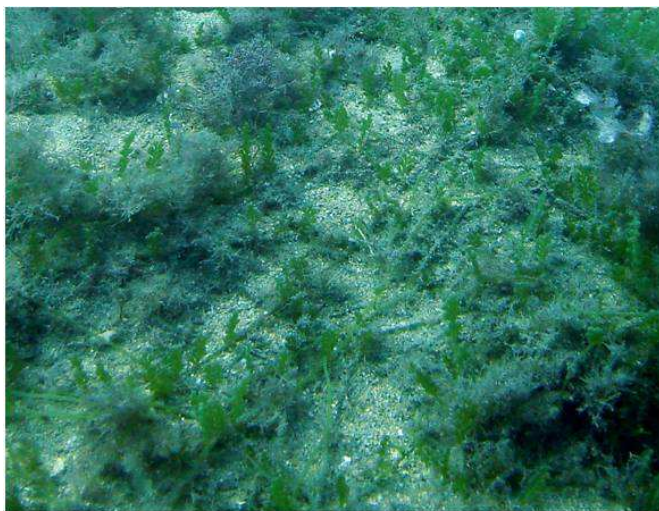


Fig. 2.2: Esempi di matte morta di *Posidonia oceanica* all'interno del trench.

2.2.3 *P. oceanica* su “rubble mound”

I *rubble mound* (cumuli di pietre) caratterizzano la porzione orientale della trincea. I massi di calcare, come è noto, sono stati utilizzati per colmare lo scavo effettuato per il posizionamento della seconda linea del TRANSMED. Le modalità di deposizione sono state tali da avere trasformato il paesaggio sottomarino in una distesa di cumuli di massi immersi in una matrice pianeggiante anch'essa costituita da massi. Durante le precedenti ispezioni i cumuli si presentavano con la sommità ed i fianchi privi di colonizzazione di macrofite ed apparivano bianchi. Tra un cumulo e l'altro, nelle valli, si osservava invece l'insediamento di *Posidonia oceanica*, seppure con un impianto che, almeno nei primi anni, era poco denso e non strutturato.

Durante l'ispezione del 2010 la struttura dei cumuli è apparsa notevolmente mutata. A distanza di circa 17 anni dalla loro deposizione e di 11 anni dall'ultima analisi visiva effettuata i cumuli si sono in parte addolciti perdendo in gran parte la forma di collinetta e, soprattutto, quasi tutto il substrato costituito da pietre di calcaree è stato colonizzato da *Posidonia oceanica* nelle aree visionate (Filmati 548, 549, 557 e 575; Fig. 2.3 e 2.4).

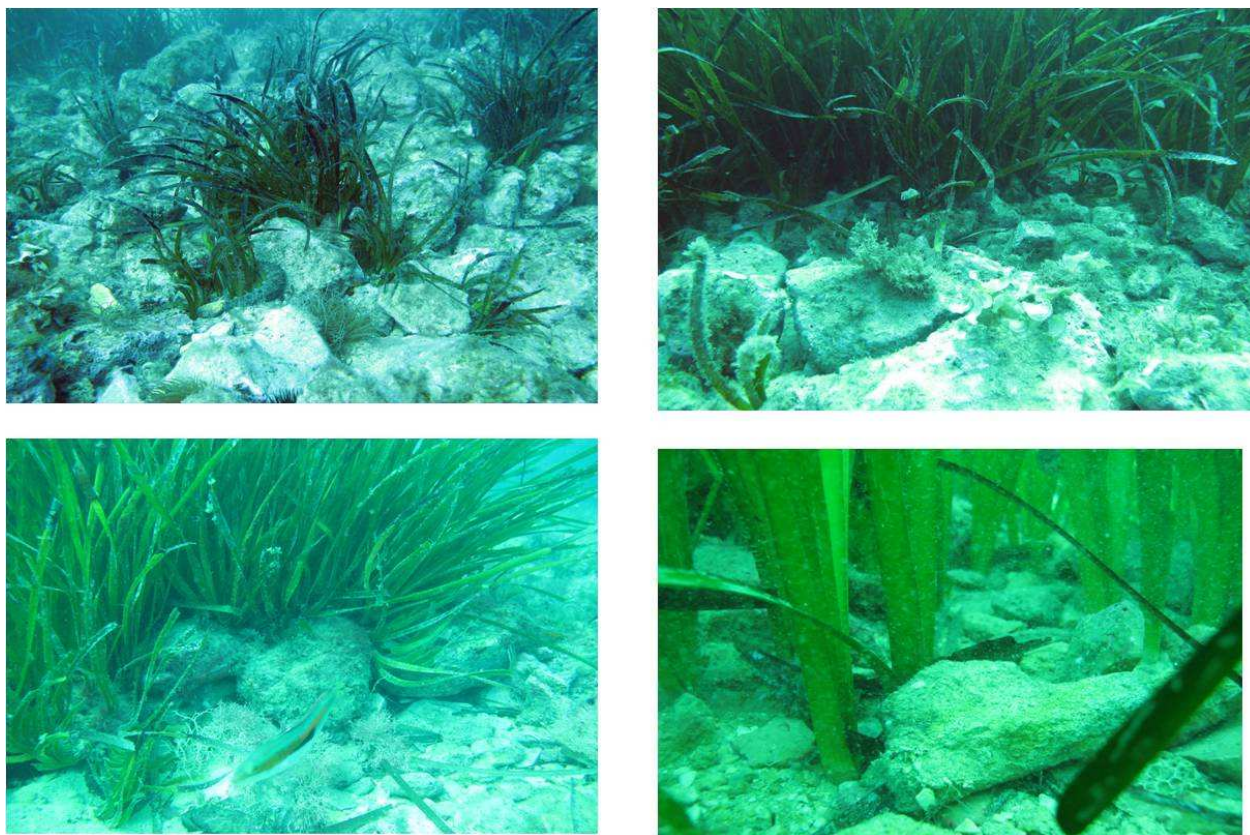


Fig. 2.3: Dettagli di impianti nuovi e già consolidati su massi di calcare.

La colonizzazione è stata così efficace da rendere difficile l'avvistamento dei cumuli. In effetti, dall'alto, si osserva una prateria semicontinua o costituita da grandi patch (Fig. 2.3 e 2.4). Solo un'osservazione più ravvicinata permette di individuare, al di sotto del fogliame della prateria il substrato costituito da massi di calcare. Dalle osservazioni effettuate è anche facile comprendere come spesso sia le patch di grandi dimensioni $> 4 \text{ m}^2$ sia la prateria semicontinua, sono il risultato dello sviluppo di singoli nuclei accresciutisi nel tempo. A volte si intuiscono corridoi tra le patch costituiti da sole pietre (Fig. 2.3).

Spingendosi ad osservare alla base degli insediamenti si nota come la colonizzazione è recente e dovuta alla propagazione dei rizomi plagiotropi che scorrono al di sotto dei massi e dai quali sbucano i rizomi verticali in assenza di un ricoprimento sedimentario. Nelle patch più antiche si osserva quello che potrebbe definirsi come l'inizio della costituzione di una vera e propria matto (Fig. 2.5).

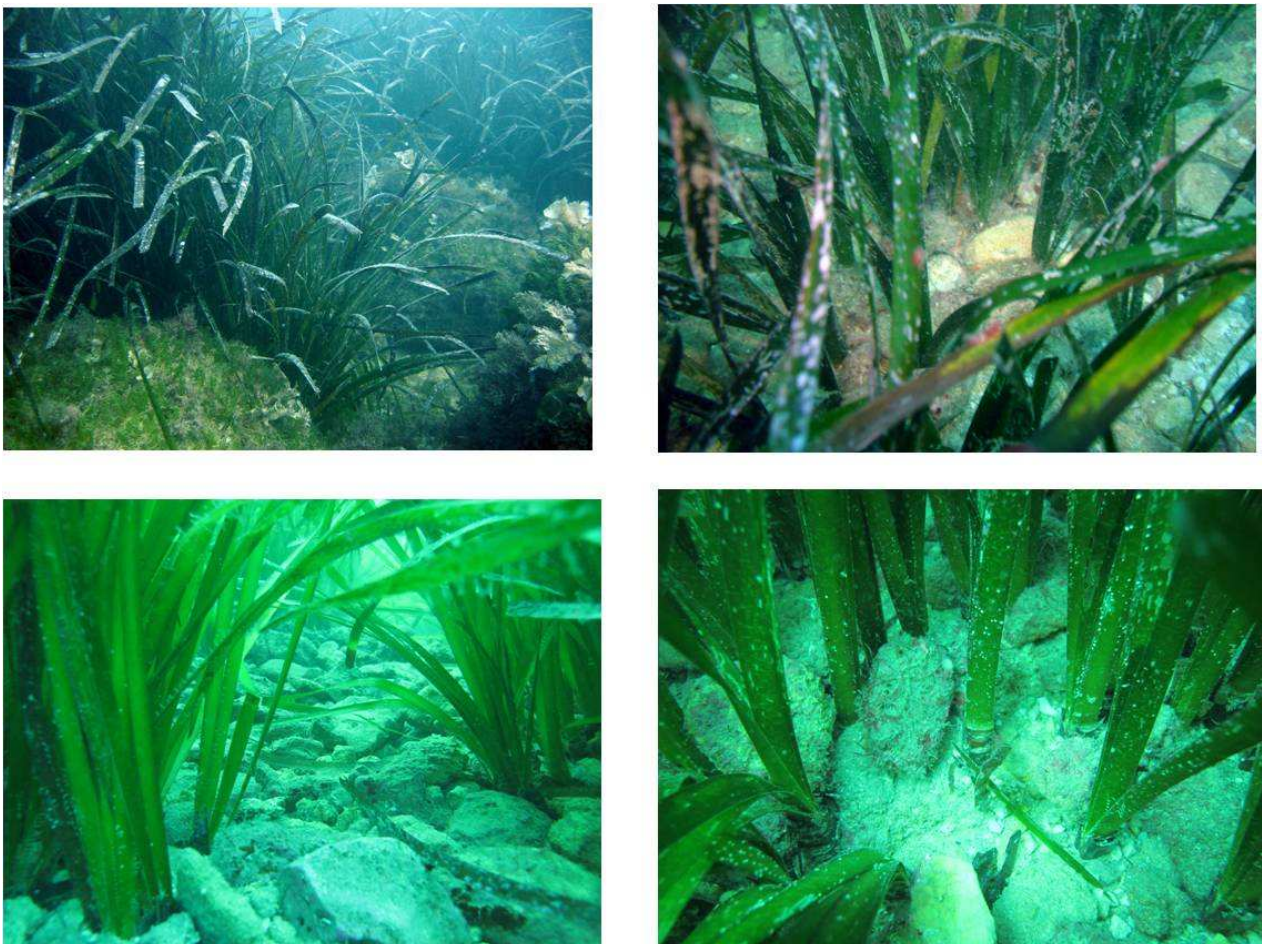


Fig. 2.4. Dettagli di impianti nuovi e già consolidati su massi di calcare.

Semplicemente asportando manualmente il substrato costituito da massi al margine delle patch si può creare una sorta di sezione trasversale del prato attraverso la quale è possibile osservare lo struttura della matre. Utilizzando questo artificio si intuisce perfettamente il processo di colonizzazione avvenuto negli anni successivi alla colonizzazione (Fig. 2.5).



Fig. 2.5: Formazione della matre ed investimento energetico in radici dei rizomi colonizzanti.

Un propagulo, presumibilmente costituito da un singolo fascicolo o da più fasci (fino a più di 20), raggiunge, trasportato dalle correnti, l'area dove si trovano i cumuli di massi. A questo punto il propagulo si incastra tra gli interstizi lasciati liberi tra un masso e l'altro ed investe tutte le sue energie nella produzione di radici, trascurando la produzione di foglie (Fig. 2.5). Il risultato è che la biomassa delle radici diventa una parte preponderante della pianta ed il rizoma riesce ad incastrarsi sempre più e sempre meglio al substrato. Garantito l'ancoraggio il propagulo inizia a spendere parte della sua energia nella produzione di foglie e, successivamente, in quella di rizomi. Il nucleo iniziale comincia la sua espansione e colonizza le aree circostanti dove, quando incontra un altro masso, lo ingloba con le radici o vi striscia al di sotto. In parallelo, l'aumentata produzione di foglie cambia la microcircolazione della corrente favorendo la precipitazione di sedimento. Il conseguente intreccio di radici, rizomi, pietre e sedimento va a formare la matte.

Il substrato costituito da pietre di calcare è più alto rispetto al resto del fondo marino e resiste meglio alle intrusioni delle lenti di sabbia trasportate da moto ondoso e correnti, che per influenzare negativamente la crescita della pianta devono prima colmare tutti gli interstizi e contrastare l'ostacolo fisico rappresentato dai cumuli.

Il risultato principale di questa ispezione del 2010 è che in gran parte dei cumuli la pianta ha attecchito e si è propagata orizzontalmente generando nuovi rizomi verticali a partire dai nuclei iniziali. Parallelamente, altri nuclei hanno alimentato il reclutamento intensificando il processo di colonizzazione. Le foglie hanno catturato sempre più sedimento e la matte ha cominciato a formarsi. In circa 17 anni osserviamo quello che potremmo definire come l'embrione di una nuova prateria. L'unica minaccia a questo insediamento sembra essere la mobilità di grandi masse di sabbia e ghiaia che, come vedremo nei successivi capitoli, si è originata in gran parte durante lo scavo ed il ricoprimento della prima trincea. Questo sedimento minaccia soprattutto i margini del nuovo insediamento.

2.2.4 Ciottoli

Una buona parte della porzione centrale della trincea appare ricoperta da ciottoli. I ciottoli formano lenti non troppo estese ed in alcune parti si ritrovano singole unità sparse. L'origine di questi ciottoli non è naturale (Filmato 502). Essi sono il risultato della disgregazione, ancora oggi in corso, dei massi e blocchi di calcarenite utilizzati per il ricoprimento della trincea durante la preparazione della prima linea del TRANSMED. La calcarenite è un materiale molto friabile ed un esame ravvicinato dei ciottoli ne rivela senza dubbio la loro origine. I ciottoli sono instabili sia perché si sgretolano sia perché leggeri e mobili. Tuttavia, a volte, fungono da nucleo di aggregazione per rizomi vaganti all'interno della trincea. Tali nuclei, contrariamente a quanto avviene con i cumuli di massi di calcare, sono effimeri e non danno vita ad alcun insediamento stabile (Fig. 2.6).

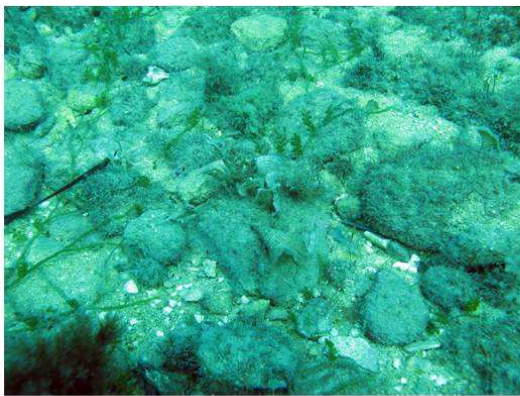


Fig. 2.6: Substrato caratterizzato da ciottoli formatisi a seguito dello sgretolamento dei massi di calcarenite. I ciottoli offrono un attacco effimero a rizomi beanti all'interno della trincea.

2.2.5 Sabbia e ghiaia

Sabbia e ghiaia sono la componente principale della trincea. Anche in questo caso gran parte della sabbia e la totalità della ghiaia che si ritrovano nella trincea sono stati portati lì dall'uomo. Si tratta in effetti del risultato dello sgretolamento dei massi di calcarenite. I massi durante il processo erosivo, si riducono di dimensioni formando ciottoli sempre più piccoli ma il materiale sgretolato va a formare una sabbia grossolana mista a ghiaia che costituisce il paesaggio dominante all'interno della trincea (Fig. 2.7 e 2.8). Questo substrato altamente instabile e mobile costituisce un pericolo ed una minaccia costante per i posidonieti, sia quelli naturali che quelli reimpiantati sui massi di calcare (Filmati 489 e 515). Nessun impianto di Posidonia è visibile su sabbia e ghiaia. Di contro, ai margini della trincea si osservano frequentemente patch isolate circondate, ed in parte soffocate dal substrato mobile che le sta soffocando. La grande disponibilità e mobilità di sedimento all'interno della trincea è una delle principali minacce ai prati ancora sani (Fig. 2.7 e 2.8).

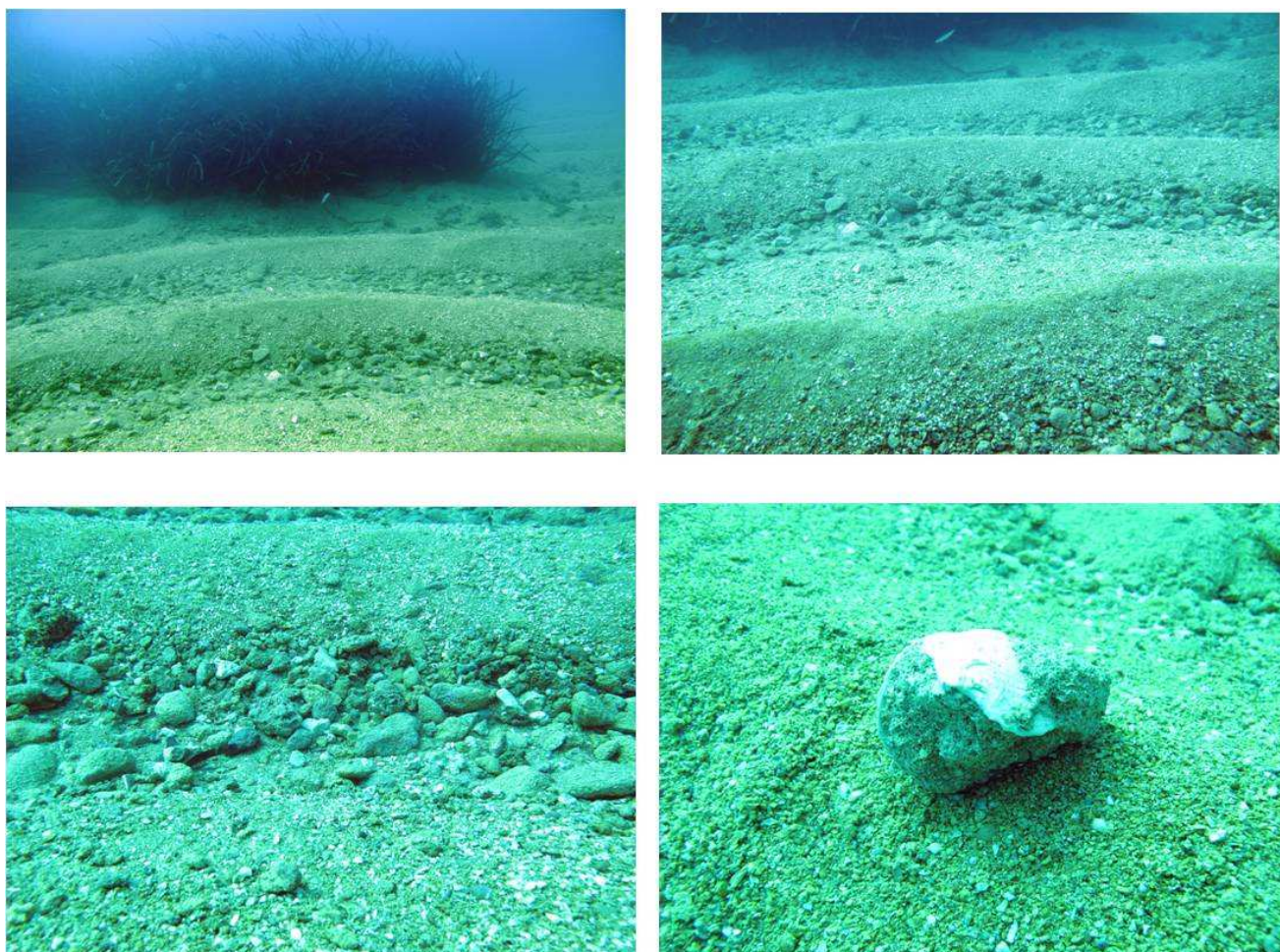


Fig. 2.7: I substrati mobili minacciano l'integrità della prateria e sono in gran parte il risultato dell'erosione dei massi di calcarenite che ricoprivano la trincea dopo il primo scavo.



Fig. 2.8: I substrati mobili minacciano l'integrità della prateria e sono in gran parte il risultato dell'erosione dei massi di calcarenite che ricoprivano la trincea dopo il primo scavo.

2.2.6 Grandi massi isolati

Un po' dovunque all'interno della trincea, ma soprattutto nella porzione centrale, si ritrovano alcuni massi di dimensioni variabili da 0,5 ad 1 m² ed altezza fino a 70 cm. Il loro numero è esiguo e la loro origine è probabilmente legata alle operazioni di scavo. La peculiarità di questi massi è che sono parzialmente ricoperti da *Posidonia* (Filmati 503 e 554) e sono l'unico altro substrato all'interno della trincea ad apparire colonizzato da *Posidonia* (Fig. 2.9). E' difficile tuttavia affermare se si tratta di un impianto nuovo, cioè di una colonizzazione avvenuto dopo gli scavi, o se i massi sono stati rimossi e la *Posidonia* è rimasta a loro adesa. In alcuni di questi massi si registra la crescita tanto di rizomi orizzontali che di rizomi verticali.

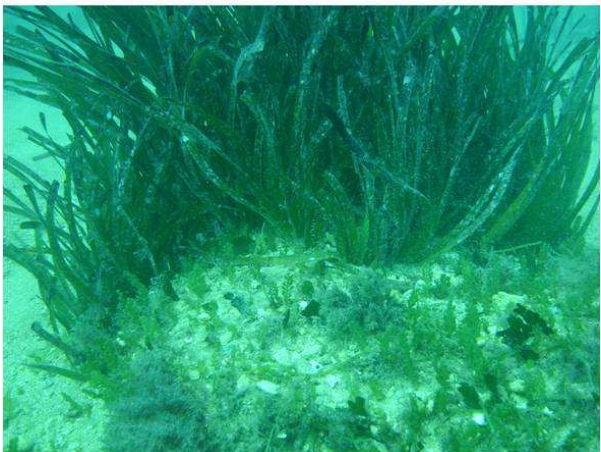


Fig. 2.9: Dettaglio di grandi massi rocciosi al disopra dei quali cresce *Posidonia oceanica*.

2.3 Conclusioni

L'area interessata dallo scavo della trincea per la realizzazione del TRANSMED a Capo Feto risente pesantemente, anche a distanza di oltre 30 anni dai primi lavori, dell'impatto subito. La grande cicatrice lasciata dagli scavi è rimasta un mosaico di substrati incoerenti e poco classati dove dominano le sabbie grossolane e le ghiaie. La ferita inferta al posidonieto non si è rimarginata anzi, spostamenti di grandi masse di sabbia hanno determinato negli anni l'incremento della quantità di matte morta soprattutto lungo margine occidentale della trincea. Le ragioni del degrado sono da ricercare certamente nel violento impatto meccanico subito dal prato durante lo scavo, specialmente durante la realizzazione delle prime linee e, in seconda ragione, per l'aver deposto materiale di risulta direttamente sulla prateria. Il danno più subdolo è tuttavia quello causato dal continuo rimaneggiamento da parte di correnti e moto ondoso dei fondali sabbiosi che si trovano all'interno della trincea. Le vaste lenti di sabbia, generatisi in buona parte a causa dell'erosione dei massi di calcarenite utilizzati durante il primo scavo, costituiscono oggi la principale minaccia per il resto della prateria.

Tuttavia, si deve registrare che là dove la trincea è stata colmata utilizzando massi di calcare la prateria ha dato origine ad un fenomeno del tutto particolare: *Posidonia oceanica* sta lentamente ricolonizzando queste aree. Il fenomeno era stato già osservato e descritto in alcuni lavori scientifici ma l'ispezione realizzata nel 2010 permette di affermare, sia pure qualitativamente, che il processo è andato avanti e che i cumuli di massi di calcare possono costituire un valido substrato per l'ancoraggio dei rizomi e per la loro espansione e crescita (Filmati 533-534). I numerosi interstizi tra i massi permettono ai rizomi di incastrarsi e fungono anche da serbatoio capace di digerire il surplus di sabbia che generalmente tende a soffocare e dunque far regredire la prateria. Ulteriori studi e sperimentazioni saranno necessari per poter meglio comprendere i meccanismi di recupero della prateria di Capo Feto

Parte terza: Conclusioni e indicazioni

In conclusione per quanto concerne le sperimentazioni eseguite nella prima parte sui germogli, l'utilizzo di un substrato consolidato per la realizzazione di interventi di ripristino è di primaria importanza perché i germogli possano insediarsi. Questo substrato deve anche presentare una complessità alla scala del germoglio, ossia dei centimetri, perché questo consente al germoglio, soggetto al moto ondoso e correnti, di scivolare ed assestarsi negli spazi interstiziali presenti tra rocce adiacenti e di persistere durante le prime fasi del ciclo vitale in cui manca di un apparato radicale ben sviluppato e dunque il rischio che venga scalzato da moto ondoso e correnti è sensibilmente più elevato di quello che si avrebbe per un individuo già saldamente ancorato. I risultati degli esperimenti realizzati indicano che un substrato consolidato, costituito da rocce di dimensioni medie di circa 18 x 10 x 11 cm (taglia grande) presenta una minore capacità di trattenere i germogli rispetto a substrati costituiti da rocce di varia pezzatura a causa del maggior volume degli spazi interstiziali; se si sceglie di realizzare una massicciata utilizzando rocce di questa pezzatura si corre il rischio che i germogli cadano in profondità e ricevano quantità luce insufficienti a garantire la sopravvivenza ed l'accrescimento nel tempo. Per questo sarebbe consigliabile utilizzare insieme a rocce di pezzatura grande anche altre pezzature di taglia minore. Nelle nostre sperimentazioni il trattamento composto da rocce grandi con aggiunta di rocce piccole per colmare parzialmente gli interstizi (Big and small) ha dato anche le migliori prestazioni in termini di accrescimento del germoglio.

L'utilizzo di supporti a cui fissare i germogli, da posizionare poi su un substrato predisposto, è realizzabile, è necessario però utilizzare dei dispositivi che assicurino stabilmente il germoglio al supporto, come nel caso della rete elastica utilizzata nel quarto esperimento. L'unità germoglio-supporto così prodotta potrà poi essere posizionata sulla massicciata ed il supporto stabilizzerà il germoglio evitando che possa essere scalzato facilmente dall'azione delle acque. Bisogna tuttavia considerare che le dimensioni ed il peso dell'insieme ciottolo-germoglio sono tali da renderne possibile lo spostamento ad opera del moto ondoso e/o correnti presenti nel sito scelto, per questo la presenza di una massicciata che presenti un adeguato livello di complessità morfologica è comunque necessario per trattenere l'insieme supporto germoglio.

Le osservazioni condotte nell'ottobre 2010 presso il sito di Capo Feto testimoniano che il recupero della prateria tramite propaguli vegetativi (rizomi) documentato a partire dal 1993 (Badalamenti *et al.*, 2011, in press; Di Carlo *et al.*, 2005) su substrato costituito da massi calcarei è ancora in atto e le patch insediate su questa tipologia di substrato continuano ad espandersi. La ricolonizzazione tramite propaguli vegetativi rappresenta quindi una modalità con cui la pianta riesce ad ottenere un recupero naturale molto veloce e persistente nel tempo. Se consideriamo infatti la velocità di crescita di *P. oceanica*, mediamente di 2-4 cm anno⁻¹ per il rizoma plagiotropo, il recupero di 3.24 ettari di prateria stimati nell'arco di 7 anni (Badalamenti *et al.*, in press) rappresentano un valore molto elevato. Questo si ritiene possibile per la concomitanza di due processi: da una parte l'espansione delle patch già insediate sviluppatesi a partire da propaguli vegetativi, dall'altra un rifornimento continuo di propaguli vegetativi dalla prateria integra circostante. I dati sul recupero della prateria nell'area di Capo Feto coprono un arco temporale di 17 anni, se si includono i dati di Di Carlo *et al.* (2005) e la recente ricognizione dell'ottobre 2010, testimoniano che il processo osservato è persistente e che questa modalità di ricolonizzazione rappresenta una strategia vincente sul lungo periodo, proprio perché basata su un processo spontaneo. Al contrario gli interventi di ripristino su praterie di *P. oceanica* realizzati finora mediante trapianto, non sono corredati da dati di monitoraggio di lungo periodo (in genere i dati di monitoraggio si riferiscono al massimo a tre anni, mentre a livello internazionale viene raccomandato un monitoraggio che duri più di 5 anni), dunque a fronte dei risultati altamente variabili manca una validazione della metodologia sul lungo periodo.

Per facilitare il recupero naturale della prateria tramite propaguli vegetativi è necessario che nel sito di interesse si garantisca la presenza di un substrato che presenti le adeguate caratteristiche di stabilità e complessità per rendere possibile l'insediamento e la persistenza dei propaguli, oltre ovviamente al realizzarsi degli altri requisiti dell'habitat della pianta. Inoltre devono essere presenti nelle vicinanze del sito praterie che possano agire come fonte di propaguli.

Un substrato di questo tipo, idoneo a facilitare il recupero naturale della prateria attraverso propaguli vegetativi, può rappresentare anche una base su cui avviare iniziative di facilitazione del reclutamento naturale tramite germogli, come indicato dai risultati del primo esperimento.

Di seguito vengono riassunte le principali indicazioni e raccomandazioni per la raccolta, l'allevamento dei germogli in vasca, le caratteristiche preferibili di un substrato artificiale su cui operare possibili iniziative di ripristino, vantaggi e svantaggi delle metodiche che è possibile utilizzare per la realizzazione di interventi di facilitazione del reclutamento naturale di propaguli sia vegetativi che sessuali:

• **Raccolta di frutti e semi:**

Frutti e semi possono essere raccolti dalla pianta madre (frutti) o da materiale spiaggiato in aree di accumulo che di norma sono distribuite lungo i tratti di costa antistanti praterie di grandi estensioni ed in buona salute. Il trasporto può avvenire in acqua mantenendo la temperatura vicina a quella ambientale (18-20 °C).

• **Stoccaggio ed allevamento in vasca:** prima di porre il materiale in vasca o acquario è consigliabile eliminare l'involucro che costituisce il frutto, ove presente, spaziare il più possibile i semi/germogli tra loro e garantire una buona ossigenazione con agitatori per acquari o pompe apposite. Inoltre la messa a punto di un protocollo di disinfezione specifico per semi e germogli di *P. oceanica* potrebbe contribuire a ridurre l'incidenza in futuro di infezioni dovute a funghi o altri patogeni.

Condizioni di allevamento in vasca (riferite al periodo compreso tra giugno e ottobre):

- Temperatura (C°): max 20.2; min: 18.3; media: 19.4 (Fig. 1.2)
- Salinità (*part per thousand*: ppt): max: 33.2; min: 30.6; media: 32.6 (Fig. 1.3)
- Disponibilità della radiazione luminosa: 2 lampade fluorescenti da 18 Watt, temperatura 6500 Kelvin per vasca, fotoperiodo 16 ore.

Le condizioni di salinità e temperatura dovrebbero essere più simili possibile a quelle dell'ambiente naturale

• **Caratteristiche preferibili del substrato su cui avviare iniziative di facilitazione:** substrato consolidato, roccioso, costituito da pietrame di varia pezzatura: la presenza di rocce di dimensioni medie 19 x 10 x 15 cm (Di Carlo *et al.*, 2005) o leggermente più piccole, mediamente 18 x 10 x 11 cm, come quelle utilizzate nelle sperimentazioni presentate nella prima parte (Big), conferisce

stabilità alla massicciata. Per ridurre il volume degli spazi interstiziali è consigliabile la presenza di rocce più piccole oltre alle rocce di taglia grande, ad esempio in una proporzione di 75% rocce grandi - 25% rocce di pezzatura minore , come nel trattamento Big and Small del primo esperimento, parte prima. Inoltre è sempre consigliabile per precauzione utilizzare materiale simile a quello già presente in loco dal punto di vista della composizione geologica e mineralogica.

• **Possibili modalità di trasferimento di propaguli vegetativi e sessuali nel sito scelto per l'intervento:** un substrato idoneo dal punto di vista della natura e complessità può favorire il reclutamento naturale dei frammenti di rizoma provenienti da praterie circostanti al sito di intervento e trasportate da moto ondoso e correnti. Inoltre è possibile distribuire propaguli vegetativi sulla massicciata lasciando che l'idrodinamismo locale li disperda fino a farli incastrare nelle fenditure tra le rocce oppure è possibile posizionarli manualmente, in immersione, tra rocce. Allo stesso modo si può procedere con i semi: questi possono essere seminati "a spaglio" su substrato preparato oppure possono essere posizionati manualmente, diminuendo la probabilità che vengano dispersi lontano dal sito idoneo e dunque aumentando la resa. I semi o germogli possono essere assicurati a dei supporti che li stabilizzino (come nel caso del ciottolo) e poi posizionati sulla massicciata. In tutti i casi i propaguli andrebbero rilasciati quanto più vicini possibile alla superficie della massicciata per minimizzare il rischio che vengano trasportati lontano dal substrato target. L'incremento dei tempi e costi necessari per passare dalla semina a spaglio, al posizionamento manuale, all'utilizzo dei supporti per stabilizzare i germogli sarebbe controbilanciato da un incremento della probabilità dei propaguli di persistere, insediarsi e nel tempo riuscire a reclutare. La scelta dipende anche dalla disponibilità di propaguli nel sito scelto e dalla necessità quindi di capitalizzare il materiale biologico a disposizione.

Bibliografia

Alagna A. (2010) Spatial distribution of *Posidonia oceanica*: habitat preference and substrate influence on vegetative fragment and seedling settlement and recruitment processes. Dipartimento di Scienze e Tecnologie Biologiche ed Ambientali, Univesità del Salento, Lecce.

Badalamenti F., Alagna A., D'anna G., Terlizzi A., Di Carlo G. (2010). The impact of dredge-fill on *Posidonia oceanica* seagrass meadows: Regression and patterns of recovery. Mar. Pollut. Bull. (2010), doi:10.1016/j.marpolbul.2010.12.011

Di Carlo G, Badalamenti F, Jensen A, Koch E, Riggio S (2005) Colonisation process of vegetative fragments of *Posidonia oceanica* (L.) Delile on rubble mounds. Marine Biology 147: 1261-1270

Orth RJ, Carruthers TJB, Dennison WC, Duarte CM, Fourqurean JW, Heck JR KL, Hughes AR, Kendrick GA, Short FT, Waycott M, Williams SL (2006a) A Global Crisis for Seagrass Ecosystems. BioScience 56(12): 987-996.

Orth RJ, Luckenbach M, Moore KA (1994) Seed Dispersal in a Marine Macrophyte: Implications for Colonization and Restoration. Ecology 75: 1927-1939.